Martina Reidl
Diss. Berlyn
1984

# Zeitmusteranalysen von Schwimmaktivität und Herzrate unter Einfluß von Chloramphenicol bei den Nutzfischen Cyprinus carpio L. und Salmo gairdneri RICH.

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

vorgelegt der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
des Wissenschaftlichen Rates
der Humboldt-Universität zu Berlin

von

Dipl.-Fischereiingenieur Martina Reide
geb. am 19. 1. 1957 in Neuruppin

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. habil. Dieter Kreysig

Gutachter: 1. Prof. Dr. M. Nichelmann
2. Dr. sc. Siegmund
3. Dr. K. Schreckenbach

Berlin, den 24. 8. 1984

Inhaltsverzeichnis


| | | Seite |
|---|---|---|
| 1. | Einleitung | 1 |
| 2. | Material und Methode | 4 |
| 2.1. | Versuchstiere und Hälterungseinrichtungen | 4 |
| 2.1.1. | Laboruntersuchungen | 4 |
| 2.1.2. | Untersuchungen unter Freilandbedingungen | 7 |
| 2.2. | Verfahren der Chloramphenicolverabreichung | 9 |
| 2.2.1. | Chloramphenicol | 9 |
| 2.2.2. | Chloramphenicolapplikation | 11 |
| 2.3. | Erfassung der Daten | 12 |
| 2.4. | Auswertung der Daten | 13 |
| 3. | Ergebnisse | 16 |
| 3.1. | Laboruntersuchungen an Karpfen | 16 |
| 3.1.1. | Einzelhaltung | 16 |
| 3.1.1.1. | Zwangsapplikation von Chloramphenicol | 16 |
| 3.1.1.2. | Applikation von Chloramphenicol über das Futter | 22 |
| 3.1.1.2.1. | Fütterungs- und Applikationszeit 14.00 Uhr | 22 |
| 3.1.1.2.2. | Fütterungs- und Applikationszeit 11.00 Uhr bzw. 16.00 Uhr | 34 |
| 3.1.2. | Gruppenhaltung | 41 |
| 3.1.2.1. | Fütterungs- und Applikationszeit 14.00 Uhr | 41 |
| 3.1.2.2. | Fütterungs- und Applikationszeit 11.00 Uhr | 46 |
| 3.2. | Untersuchungen an Forellen unter Freilandbedingungen | 48 |
| 3.2.1. | Fütterungs- und Applikationszeit 14.00 Uhr | 48 |
| 3.2.2. | Fütterungs- und Applikationszeit 11.00 Uhr | 53 |
| 3.3. | Herzfrequenzuntersuchungen an Karpfen | 58 |
| 3.3.1. | Zwangsapplikation von Chloramphenicol | 58 |
| 3.3.2. | Applikation von Chloramphenicol über das Futter | 58 |

Seite

4. Diskussion 60

5. Zusammenfassung 76

6. Literaturverzeichnis 78

Abkürzungsverzeichnis

| | | |
|---|---|---|
| A | - | Schwimmaktivität; $\bar{A}^{24}$ - Mittelwert von A über 24 Stunden |
| CA | - | Chloramphenicol |
| h | - | Stunden von 1, ..., 24 |
| d | - | Tage von 1, ..., m |
| f | - | Anzahl der Fische von 1, ..., n |
| v | - | Anzahl der Versuche von 1, ..., l |
| G | - | Anzahl der Gruppenversuche |
| Vt | - | Versuchstiere |
| Kt | - | Kontrolltiere |
| t | - | Zeit |
| PHI | - | Phasenwinkel der Acrophase |
| C' | - | Amplitude (Imp./h) |
| s | - | Standardabweichung |
| L | - | Lichtphase |
| D | - | Dunkelphase |
| p | - | Irrtumswahrscheinlichkeit |
| p.o. | - | peroral |
| i.p. | - | intraperitoneal |
| kLD | - | künstlicher Licht-Dunkel-Wechsel |
| V | - | vor der Behandlungsphase mit CA |
| W | - | während der Behandlungsphase mit CA |
| N | - | nach der Behandlungsphase mit CA |

# 1. Einleitung

In den letzten Jahren haben sich die Bedingungen der Fischproduktion vieler Länder durch die Einführung moderner Produktionsmethoden zunehmend geändert. In der Fischzucht gewinnen Warmwasser-, Netzkäfig- und Rinnenanlagen, die eine industriemäßige Produktion gestatten, eine wachsende Bedeutung. Die industriemäßige Fischproduktion, deren Zielstellung und Problematik ausführlich von MESKE (1973), STEFFENS (1975, 1979) und HERING (1976) dargestellt werden, bringt es mit sich, daß die Fische unter Umweltverhältnissen aufwachsen, die sich weitgehend von natürlichen Umweltbedingungen unterscheiden. Die Verfahrenstechnologie muß diesen veränderten Bedingungen Rechnung tragen. Neben einer günstigen Gestaltung der Umwelt, Haltung und Ernährung kommt dabei der Gesunderhaltung der Fischbestände eine besondere Bedeutung zu. Eine rechtzeitige Prophylaxe und Therapie von Infektionskrankheiten kann wegen hoher Bestandsdichten einen großen Einfluß auf das Verlustgeschehen haben. Zur Früherkennung von Instabilitäten und Erkrankungen kann die Erfassung und Interpretation biologischer Rhythmen eine wesentliche, jedoch wenig erforschte Hilfe sein (SIEGMUND 1981). Deshalb sollten nicht nur die vielfältigen technologischen und limnologischen Faktoren, die zur Entstehung von Fischkrankheiten beitragen können, untersucht werden, sondern es erscheint dringend geboten, auch physiologische und verhaltensphysiologische Gegebenheiten dieser modernen Produktionsverfahren in die Grundlagenforschung mit einzubeziehen.

Die für die menschliche Ernährung bestimmten Fische waren nie zuvor einer so intensiven Behandlung mit Medikamenten ausgesetzt wie gegenwärtig. Neben den Herbiziden zur Bekämpfung unerwünschter Wasserpflanzen und Desinfektionsmitteln zur Desinfektion von Rinnen- und Teichanlagen werden zahlreiche Antibiotika und Chemotherapeutika eingesetzt. Antibiotika gehören

zum festen Bestandteil der in den Fischzuchtanlagen benutzten Antimikrobiotika. Ohne sie ist eine gezielte Bekämpfung von Fischkrankheiten nicht mehr denkbar (REICHENBACH-KLINKE 1974, 1976, SCHÄPERCLAUS 1979). Auf Grund der in der Literatur vielfach erwähnten und beschriebenen Nebenwirkungen (KREUTZMANN 1977, REIDE 1979) erscheint es notwendig, die Einwirkung dieser Medikamente auf den Fischorganismus tiefergehend zu untersuchen. Unter den Antibiotika gelangt Chloramphenicol (CA) umfangreich zum Einsatz. Die Wirkung auf physiologische Prozesse wurde vor allem bei Säugetieren und beim Menschen untersucht (KNOLLE 1973, TROLLDENIER 1977), während der Einfluß auf die Tagesrhythmik vergleichsweise wenig berücksichtigt wurde.

Nach KÜNAST und RENNER (1981) liegen zwischen der tagesrhythmischen Organisation der Lebewesen und der Wirkung von Drogen vielschichtige Wechselbeziehungen vor. Um diese Beziehungen näher zu untersuchen, wurden einmal der Einfluß der biologischen Phase, zu der eine Droge appliziert wird, zum anderen die pharmakologische Beeinflußbarkeit tagesrhythmisch verlaufender Parameter geprüft. Der erste Fall findet vor allem aus therapeutischen Gründen Beachtung. Es ist bekannt, daß verschiedene Pharmaka, wie Kortikosteroide, Barbiturate und Anästhetika, je nach der Tageszeit zu der sie appliziert werden, unterschiedlich wirken (HALBERG et al. 1967, MAYERSBACH 1978, WOLFF 1983). Im zweiten Falle untersucht man den Einfluß von Drogen auf die Tagesrhythmik selbst, um deren Ursachen besser verstehen zu können (BÜHNEMANN 1955, BÜNNING 1956, BRUCE und PITTENDRIGH 1960, TAKAHASHI und ZATZ 1982).

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es

- den generellen Einfluß von Chloramphenicol auf die Tagesrhythmik von Karpfen und Forellen zu erfassen und
- zu prüfen, inwieweit die verhaltensphysiologische Methode der passiven Bioindikation benutzt werden kann und geeignet ist, um eventuell beim gezielten therapeutischen Einsatz von Chloramphenicol in der Fischproduktion auftretende Beeinflussungen der Tagesrhythmik am Fischverhalten zu erfassen und zu interpretieren und

- daraus gegebenfalls für die Praxis Empfehlungen abzuleiten.

Nach TEMBROCK (1980 a) nutzt die Methode der passiven Bioindikation das Verhalten in seinen meßbaren Eigenschaften um Aussagen über die Art der Organismus-Umwelt-Beziehungen zu machen.

In der vorliegenden Arbeit wurden hierzu Karpfen unter vorgegebenen Laborbedingungen und Regenbogenforellen unter Bedingungen eines Flachlandbaches (Lichtregime, Wasserversorgung) gehalten und die dabei gewonnenen Verhaltensparameter (Normalwerte) mit den Parametern verglichen, die unter identischen Bedingungen nach Einsatz des Chloramphenicols erfaßt wurden.

## 2. Material und Methode

### 2.1. Versuchstiere und Hälterungseinrichtungen

#### 2.1.1. Laboruntersuchungen

Alle Laboruntersuchungen wurden an einsömmrigen Karpfen - $K_1$ - (Cyprinus carpio L.) mit einer mittleren Stückmasse von 35 g durchgeführt. Die Karpfen stammen aus Teich-, Netzkäfig- und Warmwasseranlagen der Binnenfischerei. Die Fische wurden in Gruppenbecken vorgehältert und waren generell einem künstlichen Licht-Dunkel-Wechsel (kLD 12:12; Licht von 8.00 bis 20.00 Uhr) ausgesetzt.

Nach dem Umsetzen in die Versuchsbecken betrug die maximale Beleuchtungsstärke E = 110 lx, die Wassertemperatur T = 18 °C $\pm$ 1 K, während die anderen der genannten Bedingungen gleich blieben. Gefüttert wurde täglich, außer an den Wochenenden, mit vitaminiertem, geschabtem Rindfleisch (pro kg Futter 0,5 ml Vitamin B-Komplex und 1 ml Ursovit), wobei die Futtermenge 5 % der aktuellen Bestandsmasse betrug. Fütterungszeit und Aquariengröße wurden nach konkreten Versuchsbedingungen festgelegt (Tab. 1), die Fütterungs- bzw. Behandlungszeit erfolgten zu gleichen Zeitpunkten und sind in den Abbildungen mit einem Pfeil angedeutet.

Als Versuchsräume zur Registrierung der Schwimmaktivität und zur Zwischenhälterung standen 3 lichtdichte Kabinen zur Verfügung. Eine Wassererneuerung der belüfteten Becken erfolgte in allen 3 Kabinen einmal pro Woche; Temperaturgradienten traten nicht auf.

Die EKG-Versuche wurden in einem schallgedämpften, lichtdichten, verschlossenen Raum mit einem Licht-Dunkel-Wechsel von kLD 12:12 (Licht von 8.00 bis 20.00 Uhr) durchgeführt. Die aktuelle Wassertemperatur (20 °C) in den Vollglasbecken konnte über Aquarienheizungen mit Thermostaten ($\Delta$ T = $\pm$ 0,5 K) geregelt sowie mit Thermoelementen gemessen und durch einen Punktschreiber aufgezeichnet werden.

Tab. 1: Laboruntersuchungen

| Benennung der Versuche | Anzahl der Versuchstiere (Vt) | Anzahl der Kontrolltiere (Kt) | Art und Weise der CA-Applikation | Uhrzeit der CA-Applikation bzw. Fütterung | Aquariengröße (Vollglasbecken) | Jahreszeit |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Einzelhaltung: I, II, III | 9 | 3 | p.o. Zwangsapplikation | 14.00 Uhr | 25 l | Januar 1981 bis Mai 1981 |
| Ia, IIa, IIIa | 9 | 3 | p.o. Zwangsapplikation | 14.00 Uhr | 25 l | Februar 1982 bis Mai 1982 |
| IV, V, VI | 9 | 3 | p.o. CA über das Futter | 14.00 Uhr | 25 l | Juni 1982 bis November 1982 |
| IVa, Va, VIa | 9 | 3 | p.o. CA über das Futter | 14.00 Uhr | 25 l | Mai 1983 bis Juni 1983 |
| $A_1$ - $A_5$ | 15 | 5 | p.o. CA über das Futter | 11.00 Uhr | 25 l | Juli 1983 bis März 1984 |
| $B_1$ | 3 | 1 | p.o. CA über das Futter | 16.00 Uhr | 25 l | Januar 1984 bis Februar 1984 |
| Gruppenhaltung Gruppe 1 | 5 | - | p.o. CA über das Futter | 14.00 Uhr | 100 l | Juli 1981 |
| Gruppe 2 | 5 | - | p.o. CA über das Futter | 14.00 Uhr | 100 l | März 1982 |
| Gruppe 3 | 3 | - | p.o. CA über das Futter | 11.00 Uhr | 100 l | Januar 1984 |
| EKG-Versuche - Einzelhaltung | | | | | | |
| 1. Versuch | 5 | 5 | p.o. Zwangsapplikation | zwischen 13.00 und 14.00 Uhr | 25 l | Dezember 1981 |
| 2. Versuch | 3 | 3 | p.o. CA über das Futter | 12.00 bis 13.00 Uhr | 25 l | Januar 1984 |

Alle Tiere wurden unter Versuchsbedingungen ca. 14 Tage zwischengehältert. Die genannten Temperaturwerte beziehen sich auf sauerstoffgesättigtes (>8 mg/l) kohlendioxidarmes Wasser mit einem neutralen pH-Wert um 7,0.
Tab. 1 gibt Auskunft über die Anzahl und die Durchführung der Versuche, während Tab. 2 den zeitlichen Ablauf der Laboruntersuchungen darstellt.

Tab. 2: Zeitplan der Laboruntersuchungen

| | |
|---|---|
| Erfassung der Schwimmaktivität | ca. 10 Tage Eingewöhnung; Futterdressur |
| vor der Behandlung mit CA | 2 x 5 Tage Registrierung der Schwimmaktivität (A), Fütterung je nach Versuch 14.00 Uhr 11.00 Uhr bzw. 16.00 Uhr (s. Tab. 1) |
| während der Behandlung CA | 5 Tage Registrierung der Schwimmaktivität (A), Behandlungszeit je nach Versuch 14.00 Uhr 11.00 Uhr bzw. 16.00 Uhr (s. Tab. 1) |
| nach der Behandlung mit CA | 2 x 5 Tage Registrierung der Schwimmaktivität (A), Fütterung je nach Versuch 14.00 Uhr 11.00 Uhr bzw. 16.00 Uhr (s. Tab. 1) |
| Erfassung der Herzrate | ca. 5 Tage Eingewöhnung; Futterdressur |
| vor der Behandlung mit CA | 72 Stunden Registrierung der Herzrate, Fütterungszeit 13.00 bis 14.00 Uhr je nach Versuch (s. Tab. 1) |
| einmalige perorale CA-Gabe | Applikationszeitpunkt je nach Versuch (s. Tab. 1) |
| nach der Behandlung mit CA | 72 Stunden Registrierung der Herzrate, Fütterungszeit je nach Versuch (s. Tab. 1) |

### 2.1.2. Untersuchungen unter Freilandbedingungen

Die Freilanduntersuchungen fanden in den Monaten Mai bis September 1982 und 1983 in der ZB "Fischaufzucht" Potsdam, Betriebsteil Zippelsförde statt. Als Versuchstiere dienten Regenbogenforellen $Rf_{1-2}$ (Salmo gairdneri RICH.) mit einer mittleren Stückmasse von 60 bis 100 g, die aus den Abwachsteichen der Fischereianlagen stammten.

Die Untersuchungen wurden in einem Hauszelt mit durchsichtigen Seitenwänden durchgeführt, das am Ende der Fischereianlage zwischen dem Zuleiter und dem Rhin aufgestellt war. Dadurch konnten weitestgehend natürliche Licht- und Umweltbedingungen realisiert werden. Eine Fütterung erfolgte täglich, je nach Versuchsdurchführung 1982 um 14.00 Uhr bzw. 1983 um 11.00 Uhr. Gefüttert wurde 1 % der aktuellen Bestandsmasse mit handelsüblichen Forellenaufzuchtpellets der Sortierung Nr. 2, jeweils an der Stirnseite des Beckens, an der das Frischwasser zugeführt wurde.
Für die Durchführung der Versuche standen zwei 200 l GFP-Becken mit Klarsichtscheiben zur Verfügung. Mit einer 2stufigen Kreiselpumpe wurde Wasser direkt aus dem Rhin, der als natürliches Salmonidengewässer gilt, so in die Becken eingebracht, daß sie von unten nach oben ständig durchströmt wurden. Die Wassererneuerung betrug ungefähr 1 $m^3/h$. Die Becken wurden belüftet. Die Wassertemperatur wurde über Thermoelemente gemessen und auf einen Punkteschreiber aufgezeichnet. Die mittlere Wassertemperatur variierte im Laufe des Sommers zwischen 16 und 19 °C. Die tageszeitlich bedingten Temperaturschwankungen lagen unter einem Grad.

Pro Versuch wurden in jedes Becken 10 Forellen gesetzt, wobei es sich als günstig erwies, geringe Größenunterschiede zu wahren.
1982 und 1983 wurden jeweils 4 Versuche durchgeführt. Tab. 3 gibt Auskunft über den Zeitplan der Versuche.

Tab. 3

| | Eingewöhnung, Futterdressur |
|---|---|
| vor der Behandlung mit CA | 7 Tage Registrierung der Schwimmaktivität (A)<br>Fütterung 14.00 Uhr 1982<br>11.00 Uhr 1983 |
| während der Behandlung mit CA | 7 Tage Registrierung der Schwimmaktivität (A)<br>Behandlungszeit<br>14.00 Uhr 1982<br>11.00 Uhr 1983 |
| nach der Behandlung mit CA | 2 x 7 Tage Registrierung der Schwimmaktivität 1982<br>7 Tage Registrierung der Schwimmaktivität 1983<br>Fütterung 14.00 Uhr 1982<br>11.00 Uhr 1983 |

## 2. 2. Verfahren der Chloramphenicolverabreichung

### 2. 2. 1. Chloramphenicol

Chloramphenicol (CA) ist ein Breitbandantibiotikum. Es stellt ein weißes bis gelbliches, kristallines Pulver mit stark bitterem Geschmack dar, das in Wasser schwer löslich ist. Chloramphenicol ist öllöslich. Es besitzt beachtliche Wärmestabilität. Vor Licht und Feuchtigkeit geschützt, ist es praktisch unbegrenzt haltbar. Im alkalischen Milieu erfolgt ein Wirkungsabfall. Die Eiweißbindung des Chloramphenicols beträgt 60 %. Sie ist reversibel.

Chemisch gesehen gehört Chloramphenicol zu den Alkaloiden auf Phenylalkylaminbasis und ist eine aromatische Nitroverbindung mit einer primären und einer sekundären alkoholischen OH-Gruppe.

Die Wirkung erstreckt sich auf grampositive und gramnegative Bakterien, Kokken, Rickettsien und große Viren. Es wirkt in therapeutischen Konzentrationen bakteriostatisch. CA wird vorübergehend an der Zelloberfläche fixiert und gelangt nach 30 min in die Bakterienzelle und wirkt dort durch die Hemmung der bakteriellen Proteinsynthese.

Die Resorption beginnt etwa 1 Stunde nach i. p. Applikation und erfolgt praktisch in allen Organen, selbst die Liquorschranke wird durchbrochen, denn 50 % der Serumkonzentration ist bei Fischen im Liquor nachgewiesen worden (SCHÄPERCLAUS 1979).

Über seine Metabolisierung bei Fischen ist wenig bekannt (SCHMID 1981). Bei Säugern wird Chloramphenicol hauptsächlich durch Glucoronidierung der primären Alkoholgruppe und die Reduktion der Nitrogruppe metabolisiert und bis zu 95 %, teils unverändert (bis 10 %), überwiegend jedoch in Form seiner Metaboliten, renal ausgeschieden.

Bei Karpfen ist die Halbwertzeit des Chloramphenicols im Serum von der Wassertemperatur abhängig und beträgt

bei 7 bis 10 °C ca. 28 Stunden (KOSLOWSKI 1964)

bei 16 bis 18 °C ca. 9, 3 Stunden (SZAKOLCZAI 1965)

bei 24 bis 27 °C ca. 5, 7 Stunden (KULOW und SPANGENBERG 1974).

Bei einer Dosierung von 50 mgCA/kg und einer Wassertemperatur von 16 bis 18 °C ergaben sich folgende Blutspiegel (KULOW und SPANGENBERG 1974):

| Zeit in Stunden | Blutspiegel in µg/ml |
|---|---|
| 2 | 6,0 |
| 4 | 62,5 |
| 8 | 62,5 |
| 12 | 41,0 |
| 24 | 12,0 |

Während der ersten zwölf Stunden werden also bei dieser Dosierung relativ konstante Blutspiegel erreicht.

### 2.2.2. Chloramphenicolapplikation

Chloramphenicol wurde wie folgt dosiert:

| | | |
|---|---|---|
| Karpfen: | Anfangsdosis (AD) | 50 mg/kg Fischmasse (FM) |
| | Enddosis (ED) | 30 mg/kg FM |
| Forellen: | AD | 75 mg/kg FM |
| | ED | 50 mg/kg FM |

Berlicetindragees (1 Dragees enthält 250 mg Chloramphenicol, Hersteller: VEB Berlin-Chemie) wurden im Mörser fein gemahlen. Bei Zwangsapplikation ist Chloramphenicol als Stammlösung in Butylenglycol vorgelöst und einem Stärkebrei, der aus handelsüblichem Stärkemehl in einer Konzentration von 60 g/l mit Wasser zu einem Brei gekocht wurde, in folgenden Konzentrationen zugesetzt:

1. Tag: 50 mg/kg FM $\triangleq$ 6,25 mg/kg Applikationsbrei, dann $\triangleq$ 500 mg in 80 ml Applikationsbrei suspendiert $\triangleq$ 0,83 ml Stammlösung.
2. bis 5. Tag: 30 mg/kg FM $\triangleq$ 3,75 mg/kg Applikationsbrei, dann $\triangleq$ 300 mg in 80 ml Applikationsbrei suspendiert $\triangleq$ 0,5 ml Stammlösung.

Nach der Entnahme der Fische aus dem Becken wurde die Schlundsonde eingeführt und die der Körpermasse entsprechende Menge Stärkebrei aus der Spritze appliziert. Den Kontrollfischen ist nur Stärkebrei ohne CA appliziert worden.
Bei der Futterapplikation wurde die der Fischmasse entsprechende Menge Chloramphenicol ins Schabefleisch eingeknetet (Laboruntersuchungen) oder den Pellets zugesetzt, die vorher mit handelsüblichem Speiseöl benetzt wurden (Untersuchungen unter Freilandbedingungen).

## 2.3. Erfassung der Daten

### Schwimmaktivität

Die Erfassung der Schwimmaktivität (A) erfolgte nach der von SIEGMUND und WOLFF (1973) und SIEGMUND (1981) beschriebenen Methode. Es sind Infrarot-Lichtschranken benutzt worden. Die Signale wurden über Schnellwertschreiber digitalisiert, auf Zeitmarkenschreiber und elektromechanische Zähler geleitet und stündlich ausgedruckt.

Laboruntersuchungen:
An jedem der 25 l Becken befand sich eine Wechsellichtschranke in Beckenmitte, 9 cm über dem Beckenboden. Auf Grund vorheriger Untersuchungen sicherte diese Einstellung die häufigste Durchschwimmquote, die in Abhängigkeit von der Fischgröße ermittelt wurde.

Untersuchungen unter Freilandbedingungen:
An jedem der beiden 200 l Becken waren 2 Wechsellichtschranken stabil mit Hilfe von Laborschienen angebracht. Auf Grund vorheriger Beobachtungen des Schwimmverhaltens der Forellen wurden die Lichtschranken 25 cm über dem Beckenboden und 25 cm vom Rand entfernt montiert und erfaßten so die Schwimmaktivität ausreichend.

### Herzrate (Hr)

Die Herzrate wurde mit einer von SIEGMUND und VOGEL (1977) und SIEGMUND (1981) entwickelten Ableitmethode erfaßt. Es kamen ein Elektrokardiograph und ein Dreikanalelektrokardiograph zum Einsatz. Über einen zwischengeschalteten Schwellenwertregler, eine Frequenzblende und einen Impulsregenerierer wurden Impulse einem elektronischen Zähler zugeführt und von einem Drucker in vorwählbaren Zeitintervallen ausgedruckt.

## 2.4. Auswertung der Daten

Schwimmaktivität

Für die Berechnung der Tagesrhythmik konnten die Aktivitätssummen der stündlichen Ausdrucke direkt genutzt werden.
Für die n-Fische, an m-Tagen, in l Versuchen wurden der Mittelwert, die Streuung des Mittelwertes, der normierte Mittelwert und die Streuung des normierten Mittelwertes für jede Stunde berechnet und anschließend über den Tag gemittelt.
Das arithmetische Mittel wurde nach der Formel

$$(1)\quad \bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{n} x_i \qquad x_i \text{ - Meßdaten}$$

und die Varianz nach der Formel

$$(2)\quad s^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^{n} (x_i - \bar{x})^2$$

berechnet.
Die Schwimmaktivität (A) wurde für die gesamte Periode ($\bar{A}^{24}$) für die Lichtzeit ($\bar{A}^{L}$) und für die Dunkelzeit ($\bar{A}^{D}$) berechnet und vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA (bzw. ohne CA bei den Kontrolltieren) ermittelt und verglichen, wobei die Mittelwerte $\bar{A}$ zu gleichen Stunden für m-Tage (d):

$$(3)\quad \bar{A}^{d} = \frac{1}{m} \sum_{d=1}^{m} A_d \quad ,$$

der Mittelwert der A für n-Fische (f)

$$(4)\quad \bar{A}^{f} = \frac{1}{n} \sum_{f=1}^{n} \bar{A}_f^d \quad ,$$

der Mittelwert der A für l-Versuche (v)

$$(5)\quad \bar{A}^{v} = \frac{1}{n} \sum_{v=1}^{l} \bar{A}_v^{d,f}$$

und der Mittelwert der A für die Stunden (h)

$$(6)\quad \bar{A}^{24} = \frac{1}{24} \sum_{h=1}^{24} \bar{A}_h^{d,f,v}$$

$A^{L}$-h≡L=9, 10, . . . , 20
$A^{D}$-h≡D=21, 22, . . . , 8

berechnet wurden.

Die Varianz $s^2$, bzw. die Standardabweichung $s = \sqrt{s^2}$ wird in gleicher Reihenfolge berechnet.

Für die statistische Auswertung wurden der WILCOXON-Test nach CLAUSS-EBNER (1974), S. 245 und der t-Test für Differenzen zweier Mittelwerte aus verbundenen Stichproben (PFANZAGL 1966) mit

$$(7)\quad \bar{d}' = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{n} \bar{d}'_i \qquad \text{mit} \quad \bar{d}'_i = \bar{A}_i^1 - \bar{A}_i^2$$

$$s^2_{\alpha} = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^{n} (d'_i - \bar{d}')^2$$

$$\text{Testgröße } t = \frac{\bar{d}'}{s_{d'}} \sqrt{n}$$

benutzt und jeweils eine Signifikanzschwelle von $p \leq 0,05$ vorgegeben oder im Text gesondert vermerkt.

Um die Phasenbeziehungen nach CA-Applikation zu verdeutlichen wurde versucht, die Cosinor-Methode nach HALBERG et al. (1967) und WOLFF et al. (1983) anzuwenden. HALBERG et al. (1967) benutzten sie, um die Wirkung von Medikamenten festzustellen, die zu verschiedenen Zeiten verabreicht wurden. Sie wurde hier angewendet, um eine Phasenverschiebung durch CA nachzuweisen. Es ergaben sich jedoch infolge des geringen Probenumfanges größere Fehlerellipsen (ausführliche Darstellung bei WOLFF et al. 1983).

Andere Verfahren (Fourieranalyse, Fouriertransformation) indizieren die Periodenlängen in freischwingenden Systemen oder die Phasenlagen von in periodische Funktionen zerlegten Schwingungen, jedoch war das nicht Gegenstand der Versuchsplanung.

Herzrate (Hr)

Die Herzrate wurde in 10-Minuten-Intervallen erfaßt. Vor und nach der CA-Applikation wurde die Herzrate in Abständen von einer Minute registriert. Die graphischen Darstellungen repräsentieren die Mittelwerte über 10-Minuten-Intervalle.
Die Beurteilung der Herzrate erfolgte grundsätzlich im Vergleich zur

Kontrolle des jeweiligen Versuchs (t-Test, vgl. (7)). Alle Berechnungen sind mittels Tischrechner K 1002, bzw. programmierbarem Taschenrechner, nach Programmen, die im Bereich Verhaltenswissenschaften vorliegen, durchgeführt worden.

3. Ergebnisse

3.1. Laboruntersuchungen

3.1.1. Einzelhaltung

3.1.1.1. Zwangsapplikation von Chloramphenicol

Versuche I bis III

Der Versuchsreihe I bis III liegen 9 Vt und 3 Kt zugrunde.

Bei Anwendung einer Schlundsonde (Zwangsapplikation) konnte sowohl bei den Versuchstieren (Vt), als auch bei den Kontrolltieren (Kt) eine signifikante Reduzierung der Schwimmaktivität (A) während (W) der Behandlung im Vergleich zum Ausgangsniveau (vor (V) der Behandlung) nachgewiesen werden. Nach (N) der Behandlung war nur bei den Kontrolltieren das Erreichen des Ausgangsniveaus ihrer Schwimmaktivität zu verzeichnen, dagegen blieb die Schwimmaktivität der Versuchstiere im untersuchten Zeitraum signifikant unter ihrem Ausgangsniveau. Die Verringerung der Schwimmaktivität war in der Lichtzeit bei den Versuchstieren (40 %) stärker als bei den Kontrolltieren (16 %) (Abb. 1 und 2).

Tab. 3 Versuchstiere

| Vt n = 9 | $\bar{A}^L$ | $\bar{s}^L$ | $\bar{A}^D$ | $\bar{s}^D$ | $\bar{A}^{24}$ | $\bar{s}^{24}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| V | 413 | 165 | 187 | 52 | 298 | 175 |
| W | 248 | 117 | 106 | 58 | 177 | 119 |
| N | 289 | 133 | 166 | 46 | 230 | 144 |

Mittlere Schwimmaktivität ($\bar{A}$) und Standardabweichung ($\bar{s}$) vor, während und nach einer Behandlungsphase mit CA (p. o. Zwangsapplikation) in der Lichtzeit (L), in der Dunkelzeit (D) und über die gesamte Periode (24).

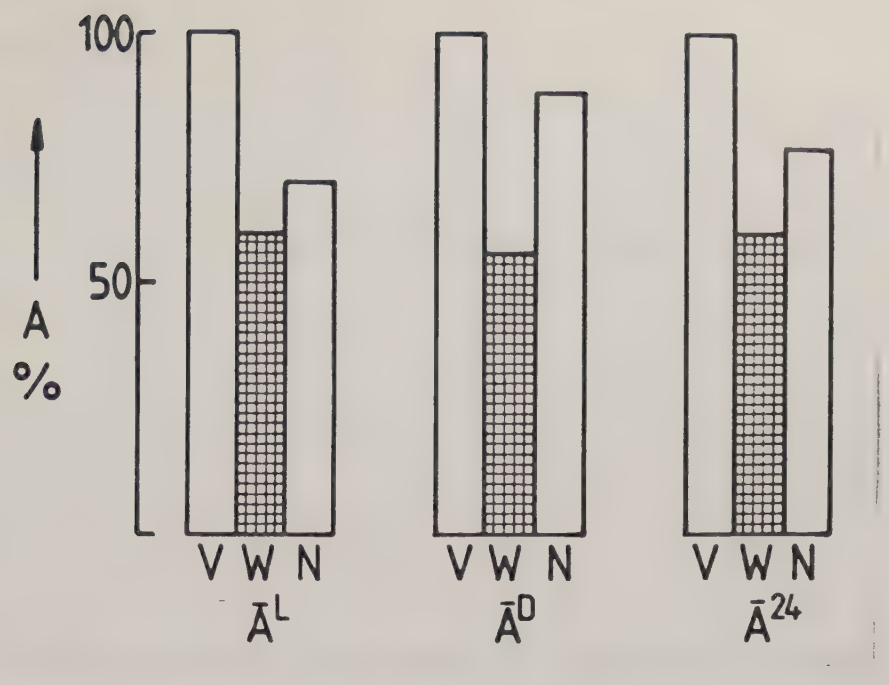



Abb. 1 Relative Schwimmaktivität der Vt vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA im künstlichen Licht-Dunkel-Wechsel

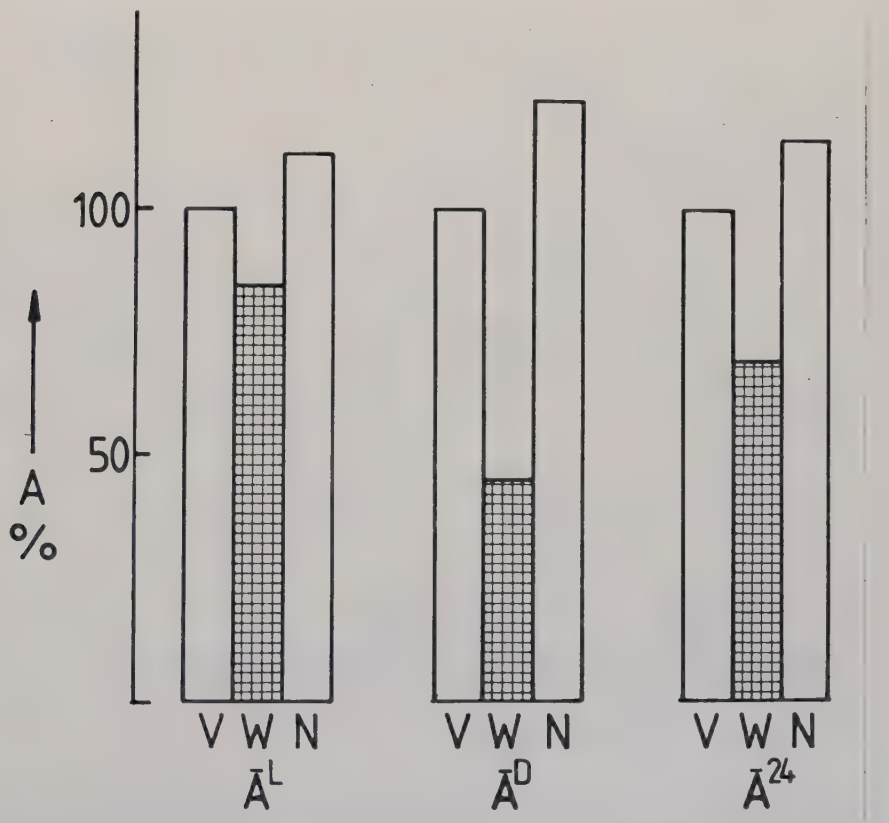



Abb. 2 Relative Schwimmaktivität der Kt, vor, während und nach der Behandlungsphase im künstlichen Licht-Dunkel-Wechsel

Tab. 4 Kontrolltiere

| Kt n = 3 | $\bar{A}^L$ | $\bar{s}^L$ | $\bar{A}^D$ | $\bar{s}^D$ | $\bar{A}^{24}$ | $\bar{s}^{24}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| V | 245 | 208 | 145 | 154 | 195 | 133 |
| W | 206 | 122 | 65 | 37 | 135 | 90 |
| N | 272 | 123 | 177 | 137 | 224 | 130 |

Mittlere Schwimmaktivität ($\bar{A}$) und Standardabweichung ($\bar{s}$) vor, während und nach einer Zwangsapplikation in der Lichtzeit (L), in der Dunkelzeit (D) und über die gesamte Periode (24).

Die Mittelwertskurven über 24 Stunden der Schwimmaktivität weisen keine Veränderung der zirkadianen Rhythmik während und nach der Behandlung mit CA auf. Die Aktivitätsgipfel liegen vor, während und nach der Behandlung zur Fütterungszeit, bzw. Applikationszeit, um 14.00 Uhr (Abb. 3).

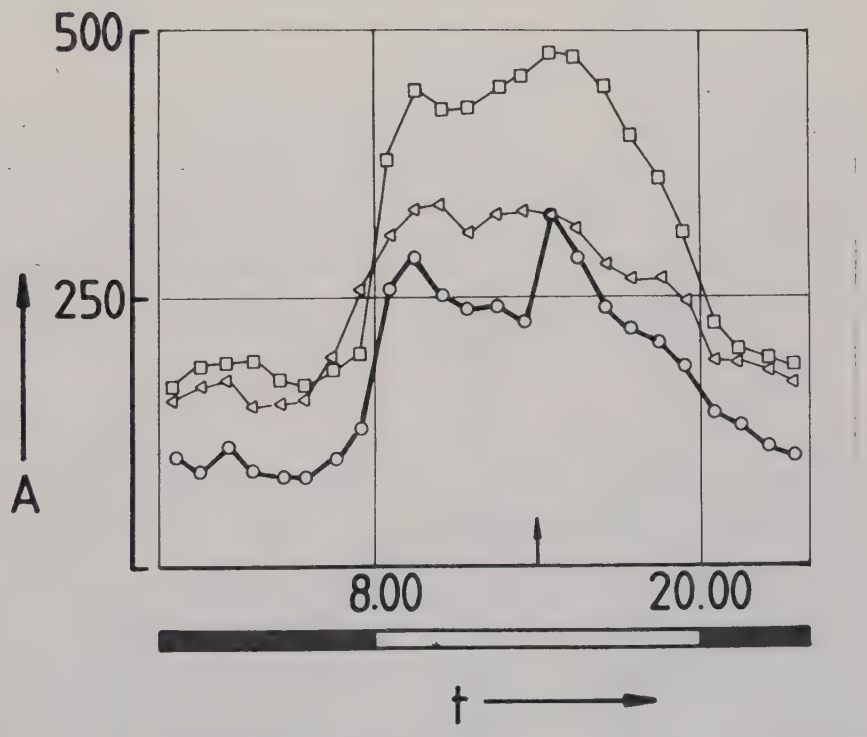



Abb. 3 Absolute Schwimmaktivität (Imp./h) der Vt im Tagesgang

□–□ vor der Behandlungsphase (Bp.) mit CA
○–○ während der Bp. mit CA
▽–▽ nach der Bp. mit CA

Versuche Ia bis III a (9 Vt; 3 Kt)

Bei einem Wiederholungsversuch mit Fischen aus einem anderen Bestand konnte ein vergleichbares Ergebnis nachgewiesen werden.

Eine signifikante Reduzierung der Schwimmaktivität während der Behandlungsphase, im Vergleich zum Ausgangsniveau, war sowohl bei den Versuchstieren, als auch bei den Kontrolltieren zu verzeichnen. Nach der Behandlung konnten nur die Kontrolltiere das Ausgangsniveau ihrer Schwimmaktivität erreichen. Die Schwimmaktivität der Vt blieb dagegen signifikant unter dem Ausgangsniveau. Die Verringerung der Schwimmaktivität war in der Lichtzeit bei den Vt ebenfalls stärker als bei den Kontrolltieren (Abb. 4 und 5).

Tab. 5 Versuchstiere

| Vt n = 9 | $\bar{A}^L$ | $\bar{s}^L$ | $\bar{A}^D$ | $\bar{s}^D$ | $\bar{A}^{24}$ | $\bar{s}^{24}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| V | 529 | 240 | 224 | 97 | 373 | 230 |
| W | 388 | 143 | 176 | 69 | 282 | 161 |
| N | 485 | 160 | 208 | 88 | 351 | 168 |

Mittlere Schwimmaktivität ($\bar{A}$) und die Standardabweichung ($\bar{s}$) vor, während und nach einer Zwangsapplikation von CA in der Lichtzeit (L), in der Dunkelzeit (D) und über die gesamte Periode (24).

Tab. 6 Kontrolltiere

| Kt n = 3 | $\bar{A}^L$ | $\bar{s}^L$ | $\bar{A}^D$ | $\bar{s}^D$ | $\bar{A}^{24}$ | $\bar{s}^{24}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| V | 317 | 216 | 222 | 158 | 269 | 189 |
| W | 255 | 121 | 121 | 255 | 188 | 106 |
| N | 330 | 217 | 145 | 142 | 271 | 173 |

Mittlere Schwimmaktivität ($\bar{A}$) und die Standardabweichung ($\bar{s}$) vor, während und nach einer Zwangsapplikation in der Lichtzeit (L), in der Dunkelzeit (D) und über die gesamte Periode (24).

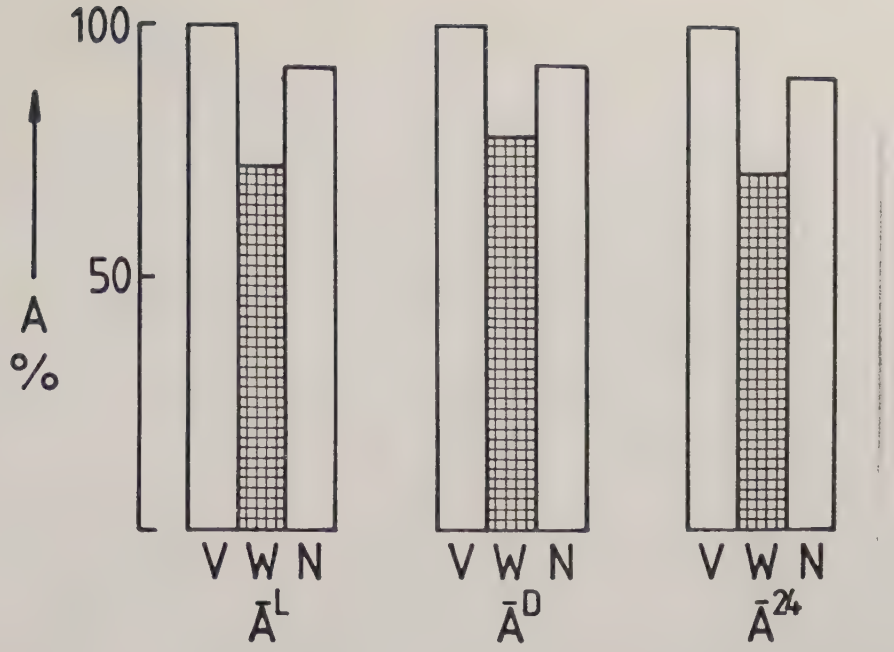



Abb. 4 Relative Schwimmaktivität der Vt vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA im künstlichen Licht-Dunkel-Wechsel

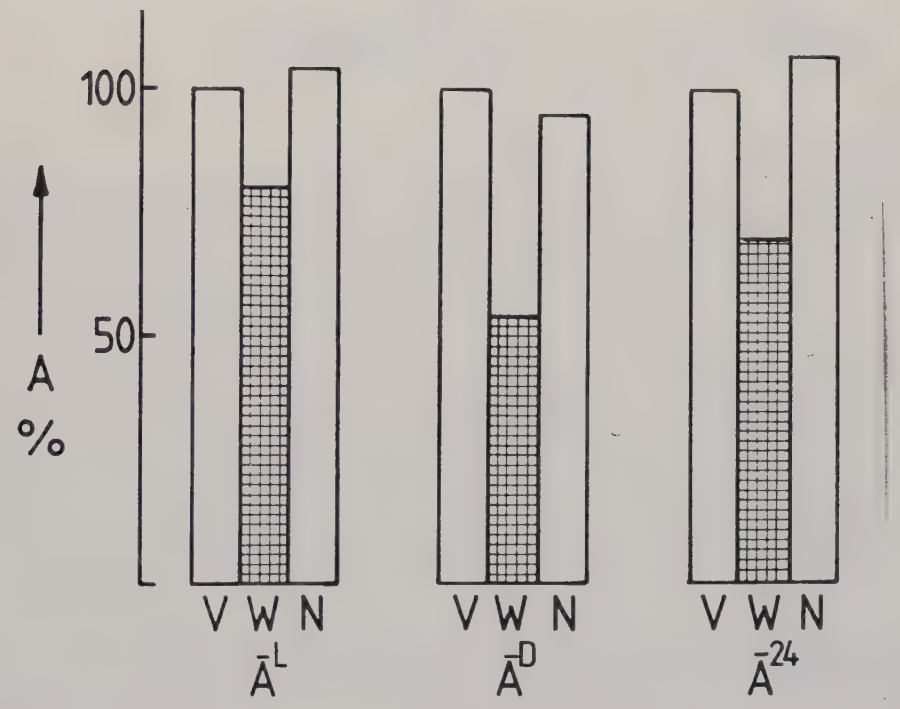



Abb. 5 Relative Schwimmaktivität der Kt vor, während und nach der Behandlungsphase im künstlichen Licht-Dunkel-Wechsel

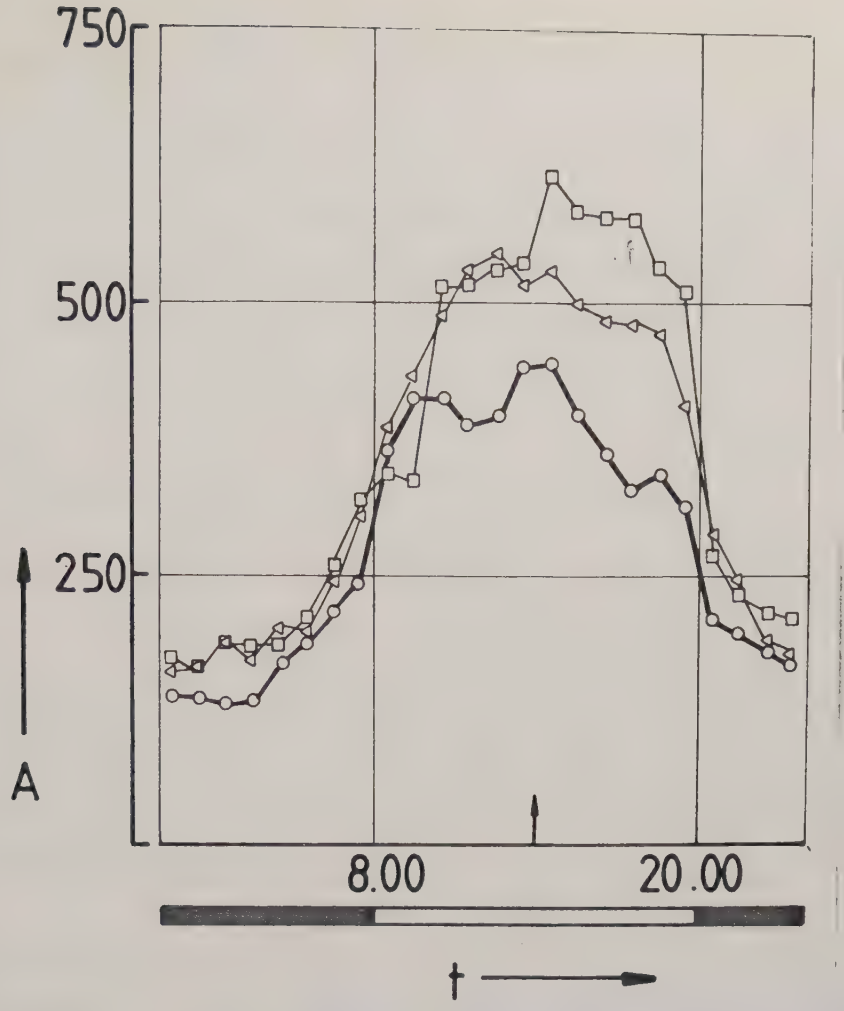



Abb. 6 Absolute Schwimmaktivität (Imp./h) der Vt im Tagesgang

□ — □ vor der Behandlungsphase (Bp.) mit CA
○ — ○ während der Bp. mit CA
▽ — ▽ nach der Bp. mit CA

Die Mittelwertskurven der Schwimmaktivität über 24 Stunden lassen keine zeitliche Veränderung des Musters erkennen. Vor, während und nach der Behandlung war ein ausgeprägter Fütterungsgipfel bei 14.00 Uhr zu erkennen (Abb. 6).

Hierbei zeigen sich analoge Ergebnisse wie bei den Versuchen I bis III (Vgl. z. B. Abb. 3 und 6).

3.1.1.2. Applikation von Chloramphenicol über das Futter

Chloramphenicol über das Futter verabreicht, wurde trotz seines bitteren Geschmacks gut von den Fischen aufgenommen. Diese Methode der Verabreichung von CA ist in Bezug auf das Verhalten der Fische rückwirkungsfrei und ist deshalb für die Beurteilung der Schwimmaktivität im Tagesgang günstiger als die Zwangsapplikation.

3.2.1.2.1. Fütterungs- und Applikationszeit 14.00 Uhr

Versuche IV bis VI (Fütterungs- und Applikationszeit 14.00 Uhr)

Der Versuchsreihe IV bis VI liegen 9 Vt und 3 Kt zugrunde. Die Versuchstiere zeigten gegenüber dem Ausgangsniveau während und nach der 5tägigen Behandlungsphase mit CA keine signifikanten Veränderungen der Schwimmaktivität über die gesamte Periode ($\bar{A}^{24}$), einschließlich Licht- und Dunkelzeit (Abb. 7).

Tab. 7 Versuchstiere

| Vt n = 9 | $\bar{A}^{L}$ | $\bar{s}^{L}$ | $\bar{A}^{D}$ | $\bar{s}^{D}$ | $\bar{A}^{24}$ | $\bar{s}^{24}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| V | 243 | 115 | 176 | 74 | 211 | 105 |
| W | 271 | 107 | 149 | 61 | 210 | 120 |
| N | 236 | 127 | 142 | 61 | 191 | 110 |

Mittlere Schwimmaktivität ($\bar{A}$) und die Standardabweichung ($\bar{s}$) vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA (p.o. über das Futter) in der Lichtzeit (L), in der Dunkelzeit (D) und über die gesamte Periode (24).

Die Schwimmaktivität der Vt im Tagesgang wies eine Aktivitätsverlagerung während der Behandlung auf. Der Aktivitätsgipfel lag vor und nach der Behandlung zwischen 14.00 und 15.00 Uhr (Fütterungsgipfel). Während der CA-Behandlung trat der Aktivitätsgipfel zwischen 18.00 und 19.00 Uhr auf, d. h. 4 Stunden nach der CA-Applikation.

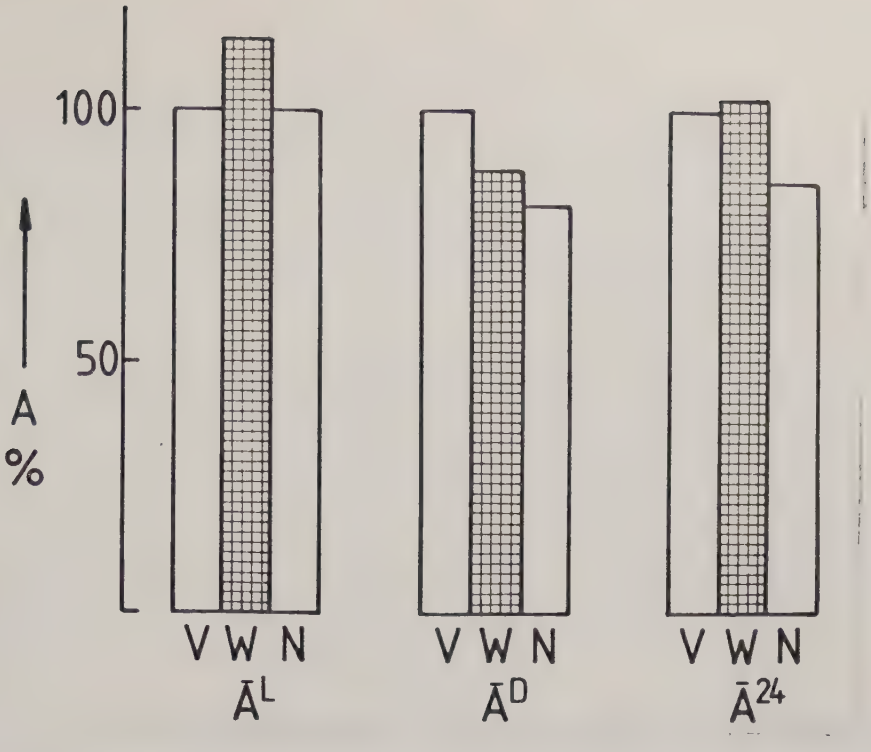



Abb. 7 Relative Schwimmaktivität der Vt vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA im künstlichen Licht-Dunkel-Wechsel

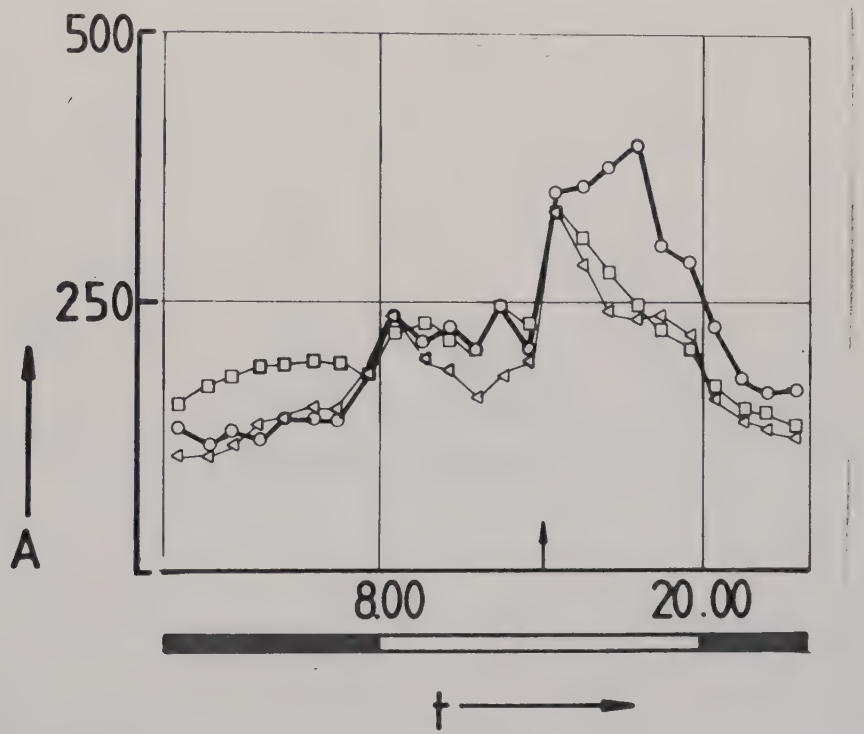



Abb. 8 Absolute Schwimmaktivität (Imp. /h) der VT im Tagesgang

□ – □ vor der Behandlungsphase (Bp.) mit CA
○ – ○ während der Bp. mit CA
△ – △ nach der Bp. mit CA

Der Aktivitätsunterschied zwischen 18.00 und 19.00 Uhr ist im Vergleich zu vor und nach der Behandlung statistisch gesichert.
Zwischen 15.00 und 18.00 Uhr vor der Behandlung unterscheidet sich die mittlere Aktivität signifikant von der während der Behandlung (Abb. 8).

Durch Normierung der Daten und Angabe der Aktivitätswerte in relativen Einheiten lassen sich Versuchstiere (mit CA behandelte Tiere) und Kontrolltiere besser vergleichen. Eine Verschiebung der maximalen Aktivität während der CA-Behandlung um 4 Stunden wurde bei den Versuchstieren deutlich. Dagegen lag das Aktivitätsmaximum bei den Kontrolltieren bei 14.00 Uhr (Abb. 9 und 10).

Mit Hilfe der Cosinoranalyse konnte eine Phasenverschiebung in der 24-Stunden-Periode während der CA-Behandlung um 1 Stunde 55 Minuten nachgewiesen werden (Abb. 11).
Die Acrophase lag vor der Behandlung bei - 199 $^{o}\hat{=}$ 13.17 Uhr, während der Behandlung bei - 228 $^{o}\hat{=}$ 15.12 Uhr, also ca. 2 Stunden später und nach der Behandlung bei - 210,04 $^{o}\hat{=}$ 14.00 Uhr. Die Amplitude (C') stieg während der Behandlung an und fiel nach der Behandlung wieder.

| | | |
|---|---|---|
| C' vor | = | 54 |
| C' während | = | 106 |
| C' nach | = | 62 |

Die Phasenschwankungen waren unterschiedlich. Die größte Phasenschwankung war vor der Behandlung zu verzeichnen.

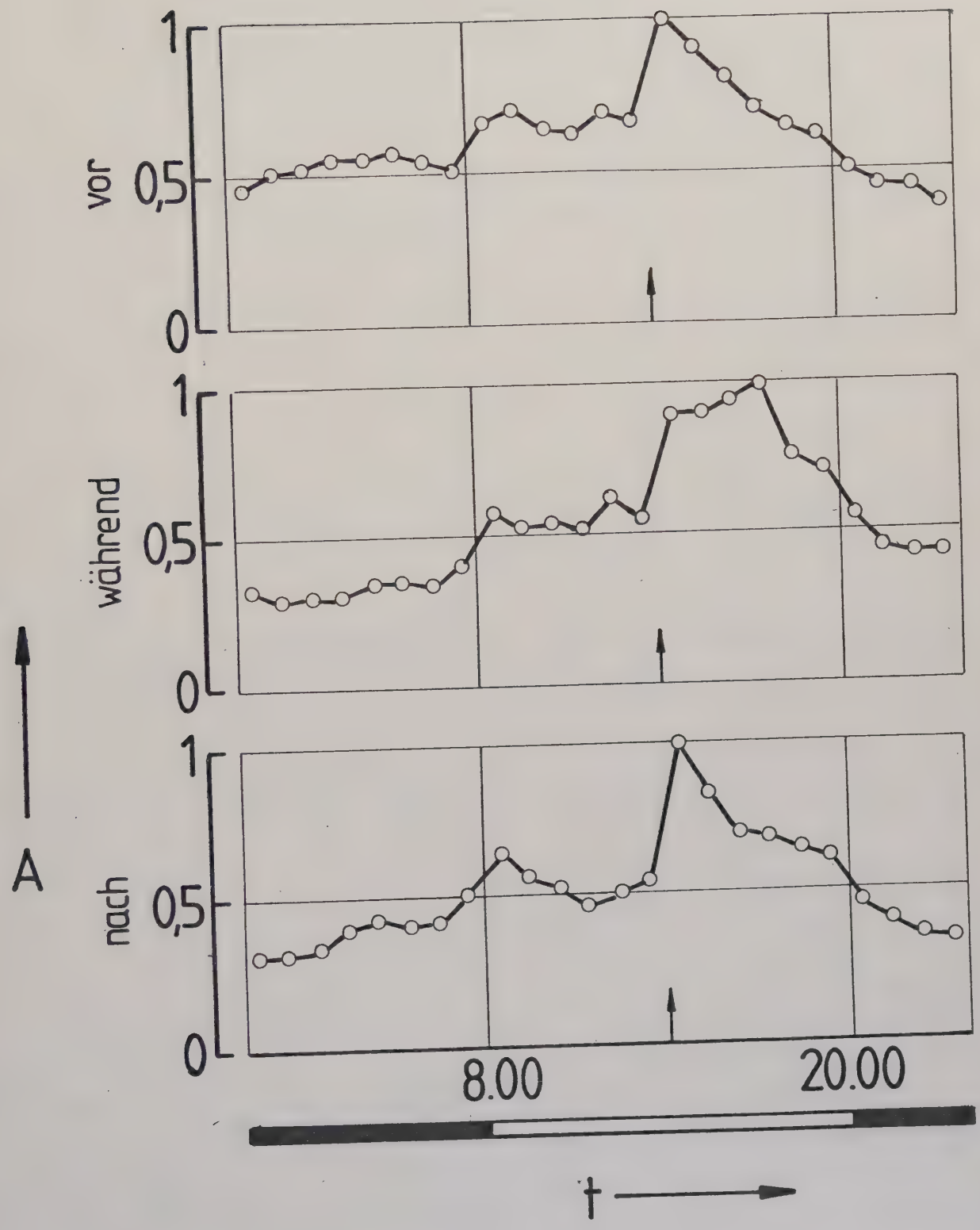



Abb. 9 Relative Schwimmaktivität der Vt vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA

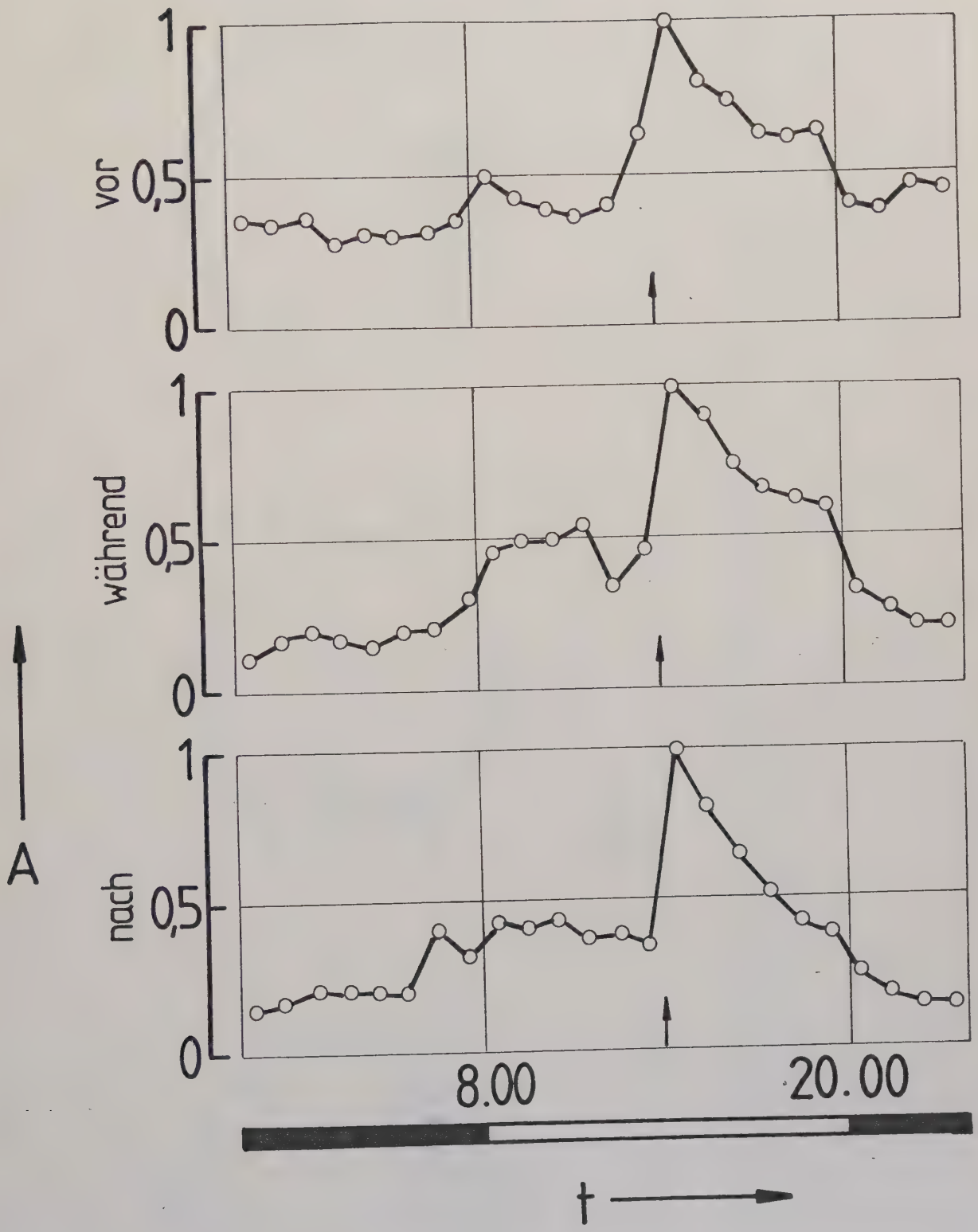
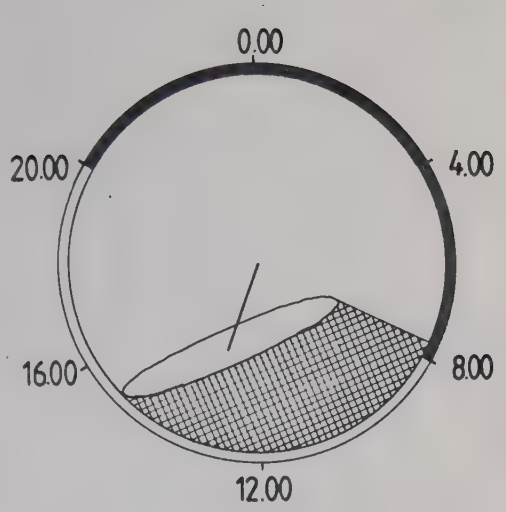
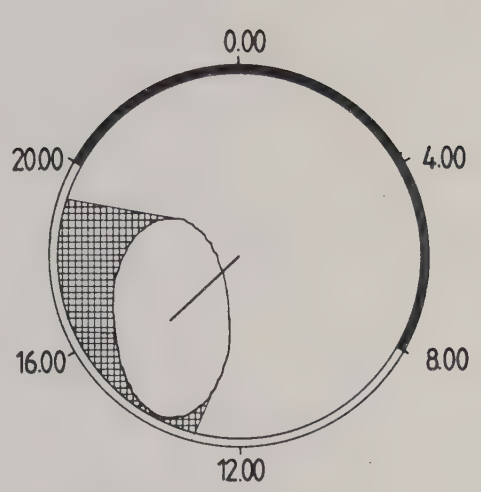



Abb. 10 Relative Schwimmaktivität der Kt vor, während und nach der Behandlungsphase



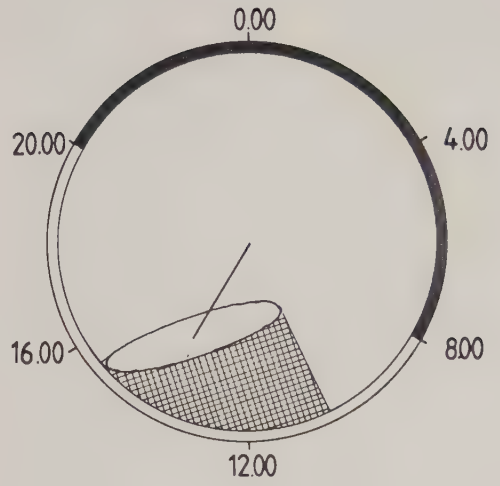

vor

PHI = - 199 ° (13.17 Uhr)




während

PHI = - 228 ° (15.12 Uhr)




nach

PHI = - 210 ° (14.00 Uhr)

Abb. 11 Cosinordarstellung der Periodik der Schwimmaktivität vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA. Kreisschema (15 Grad entsprechen 1 Stunde), mit Vertrauens-Ellipse, die das Vertrauensintervall der Acrophase kennzeichnet

Versuche IV a bis IV a (Fütterungs- und Applikationszeit 14.00 Uhr)

Bei den Wiederholungsversuchen IV a bis VI a wurden Fische aus einem anderen Bestand genutzt. Der 1. Versuch (IV a) innerhalb dieser Versuchsreihe konnte auf Grund mangelnder Eingewöhnung der Fische nicht mit in die Auswertung einbezogen werden. So liegen dieser Versuchsreihe 6 Versuchstiere und 2 Kontrolltiere zugrunde.
Die Schwimmaktivität in der Lichtzeit ($\bar{A}^L$), in der Dunkelzeit ($\bar{A}^D$) und über die gesamte Periode ($\bar{A}^{24}$) gemittelt, zeigte während der Behandlung mit CA keine signifikante Veränderung im Vergleich zum Ausgangsniveau. Nach der Behandlung war ein signifikantes Ansteigen der Schwimmaktivität in der Lichtzeit zu verzeichnen (Abb. 12).

Tab. 8 Versuchstiere

| Vt n = 6 | $\bar{A}^L$ | $\bar{s}^L$ | $\bar{A}^D$ | $\bar{s}^D$ | $\bar{A}^{24}$ | $\bar{s}^{24}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| V | 252 | 99 | 133 | 64 | 193 | 103 |
| W | 273 | 113 | 126 | 58 | 200 | 116 |
| N | 324 | 100 | 156 | 75 | 241 | 121 |

Mittlere Schwimmaktivität ($\bar{A}$) und die Standardabweichung ($\bar{s}$) vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA (p.o. über das Futter) in der Lichtzeit (L), in der Dunkelzeit (D) und über die gesamte Periode (24).

Die Schwimmaktivität im Tagesgang wies während der CA-Behandlung ähnlich den Versuchen IV bis VI eine Verlagerung der Aktivität im Vergleich zu vor der Behandlung auf. Ein ausgeprägter Aktivitätsgipfel war vor der Behandlung nicht zu erkennen.
Dagegen trat während der CA-Behandlung ein stark ausgeprägter Aktivitätsgipfel gegen 18.00 Uhr auf. Der Aktivitätsunterschied zwischen 18.00 und 19.00 Uhr ist im Vergleich zu vor der Behandlung statistisch gesichert. Die mittlere Aktivität zwischen 15.00 bis 18.00 Uhr unterscheidet sich während der Behandlung ebenfalls signifikant von der vor der Behandlung (Abb. 13).

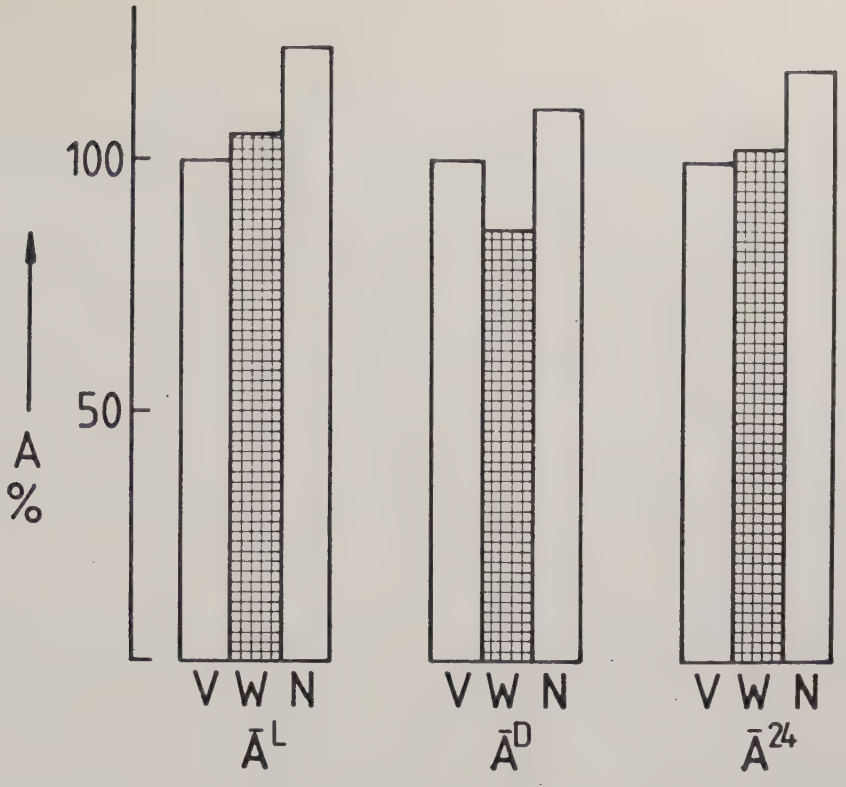



Abb. 12 Relative Schwimmaktivität der Vt vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA im künstlichen Licht-Dunkel-Wechsel

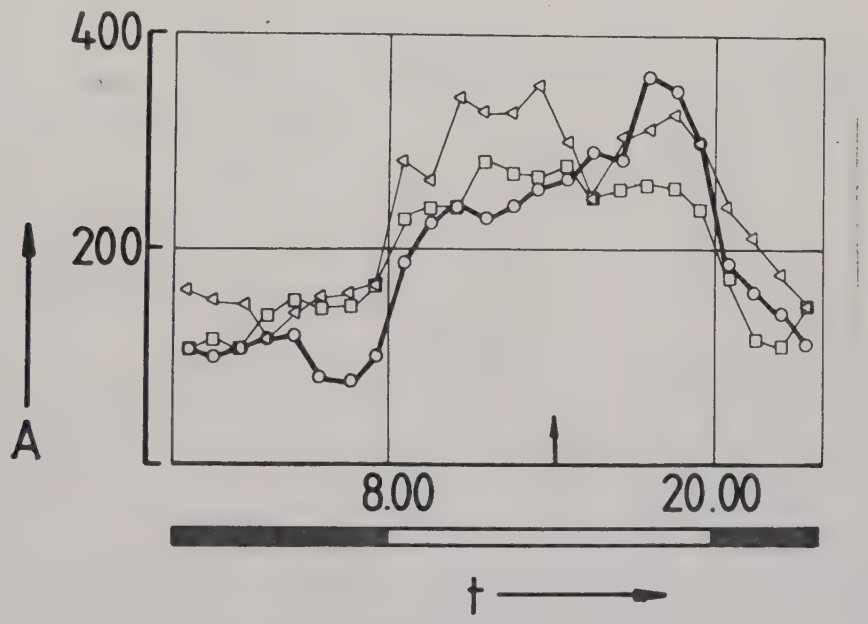



Abb. 13 Absolute Schwimmaktivität (Imp. /h) der Vt im Tagesgang

□—□ vor der Behandlungsphase (Bp. ) mit CA
○—○ während der Bp. mit CA
▽—▽ nach der Bp. mit CA

Ein Vergleich der normierten Mittelwertskurven der Vt und der Kt lassen die Zufälligkeit der Aktivitätsverschiebung während der CA-Behandlung bei den Vt ausschließen. Das Aktivitätsmaxima der Kt lag vor, während und nach der Behandlung (Fütterung) immer zwischen 14.00 und 15.00 Uhr. Dagegen trat das Aktivitätsmaximum der Vt während der CA-Behandlung 4 Stunden nach Applikation ein und lag bei 18.00 Uhr. Der Verlauf der Schwimmaktivität in der 24-Stunden-Periode nach der Behandlung ähnelt wieder dem vor der Behandlung (Abb. 14), wobei sich jedoch das Niveau der Aktivität unterscheidet (Abb. 14 und 15).

Die mit Hilfe der Cosinoranalyse ermittelte Phasenverschiebung in der 24-Stunden-Periode betrug 1 Stunde 51 Minuten während der Behandlungsphase mit CA, d. h. die Phase lief zurück (Abb. 16).
Die Acrophase lag vor der Behandlung bei $-196^{o} \hat{=}$ 13.04 Uhr, während der Behandlung mit CA bei $-223^{o} \hat{=}$ 14.55 Uhr und nach der Behandlung bei $-204^{o} \hat{=}$ 13.38 Uhr.
Die größte Phasenschwankung war vor der Behandlung mit CA zu verzeichnen, die kleinste während der Behandlung mit CA.
Die Amplitudengröße stieg während der Behandlung mit CA an und blieb auch nach der Behandlung erhöht.

C' vor = 85
C' während = 108
C' nach = 111

Somit ergeben sich für die Wiederholungsversuche analoge Ergebnisse (vgl. Abb. 9 und 14).

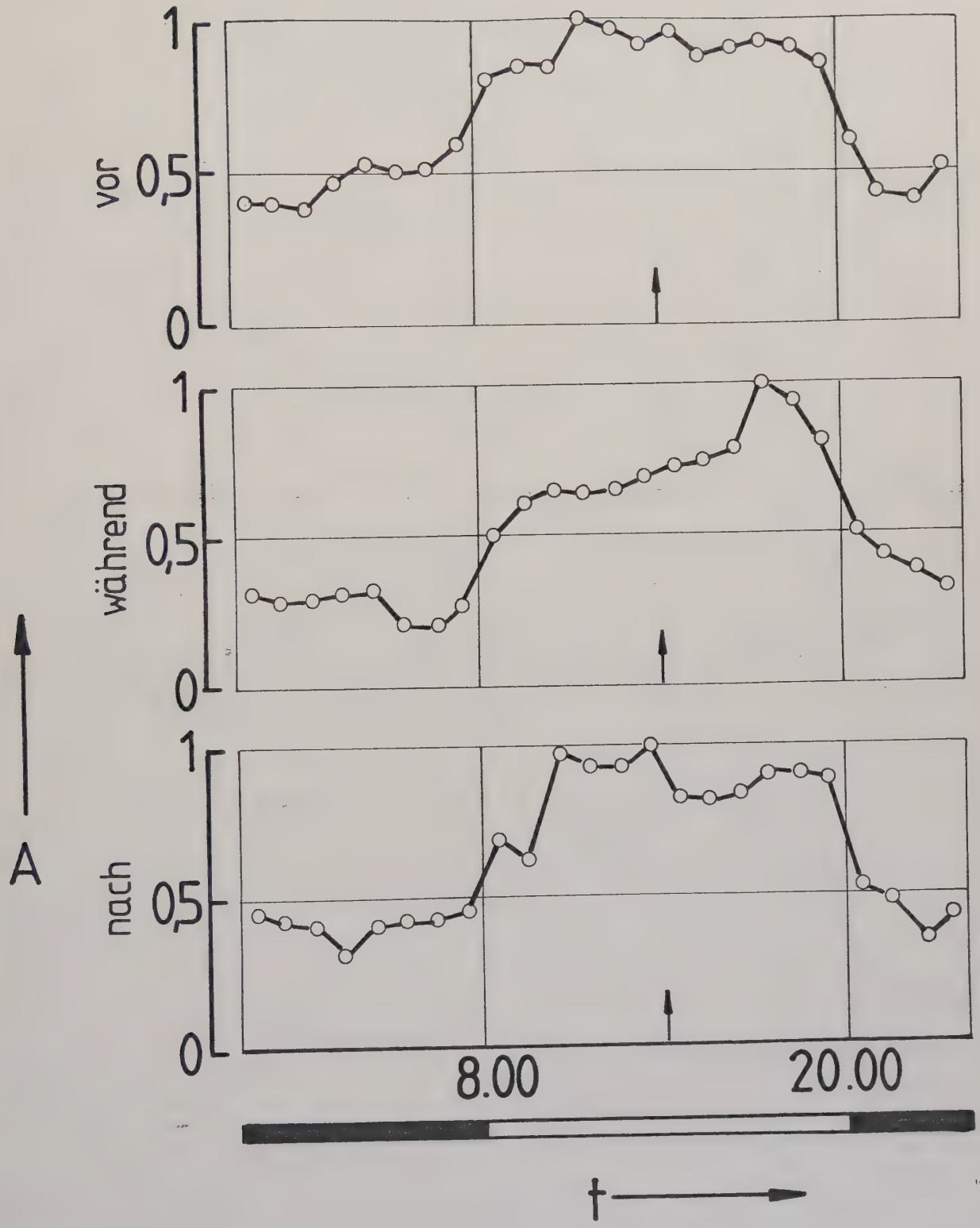



Abb. 14 Relative Schwimmaktivität der Vt vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA

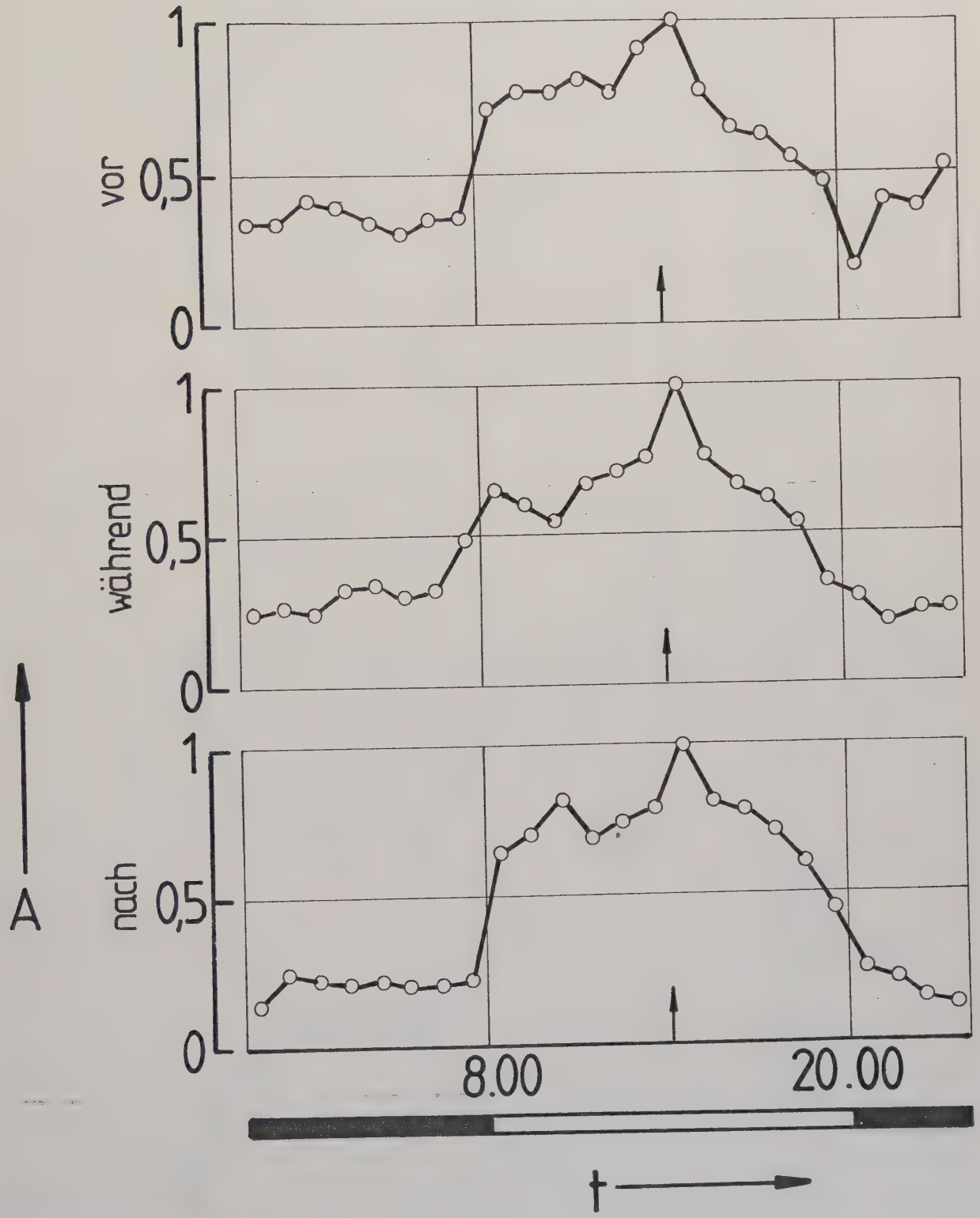
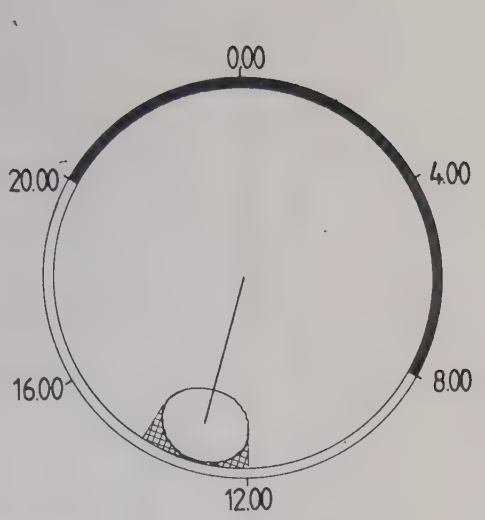
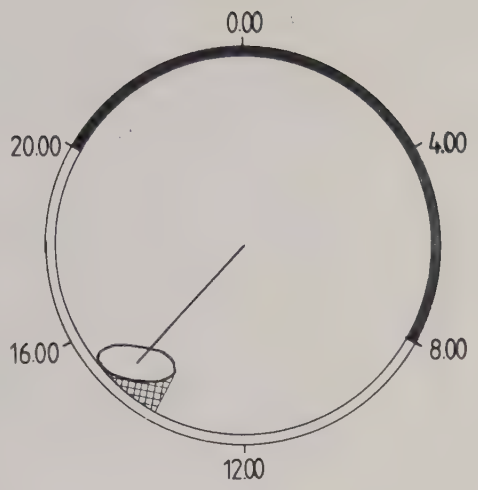



Abb. 15 Relative Schwimmaktivität der Kt vor, während und nach der Behandlungsphase



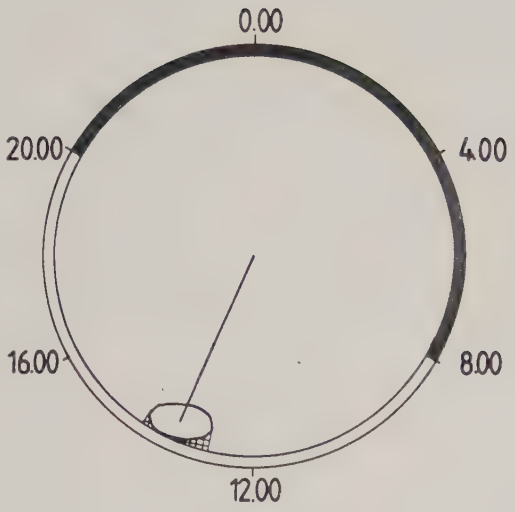

vor

PHI = - 196° (13.04 Uhr)




während

PHI = - 223° (14.55 Uhr)




nach

PHI = - 204° (13.38 Uhr)

Abb. 16 Cosinordarstellung der Periodik der Schwimmaktivität vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA. Kreisschema (15 Grad entsprechen 1 Stunde), mit Vertrauens-Ellipse, die das Vertrauensintervall der Acrophase kennzeichnet.

3.1.1.2.2. Fütterungs- und Applikationszeit
11.00 Uhr bzw. 16.00 Uhr

Mit diesen Versuchen sollte überprüft werden, ob die Reaktionsantwort bei CA-Behandlung zu anderen Tageszeiten (11.00 Uhr bzw. 16.00 Uhr) verändert wird.

Versuche $A_1$ bis $A_5$ (Fütterungs- und Applikationszeit 11.00 Uhr)

Da nur Fische aus einem Bestand zur Verfügung standen, wurde kein Wiederholungsversuch durchgeführt. Dieser Versuchsreihe lagen daher 15 Vt und 6 Kt zugrunde.

Die Schwimmaktivität in der Lichtzeit ($\bar{A}^L$), in der Dunkelzeit ($\bar{A}^D$) und über die gesamte Periode ($\bar{A}^{24}$) gemittelt reduzierte sich während der Behandlungsphase mit CA. Nach der Behandlung war ein weiteres signifikantes Abfallen der Schwimmaktivität über die gesamte Periode ($\bar{A}^{24}$) im Vergleich zum Ausgangsniveau zu beobachten (Abb. 17).

Tab. 9 Versuchstiere

| Vt n = 15 | $\bar{A}^L$ | $\bar{s}^L$ | $\bar{A}^D$ | $\bar{s}^D$ | $\bar{A}^{24}$ | $\bar{s}^{24}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| V | 292 | 110 | 116 | 70 | 205 | 120 |
| W | 284 | 105 | 100 | 66 | 192 | 138 |
| N | 239 | 167 | 97 | 55 | 167 | 120 |

Mittlere Schwimmaktivität ($\bar{A}$) und die Standardabweichung ($\bar{s}$) vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA in der Lichtzeit (L), in der Dunkelzeit (D) und über die gesamte Periode (24).

Die Schwimmaktivität im Tagesgang wies bedingt durch die Fütterung um 11.00 Uhr bereits ein hohes Niveau gleich nach Licht-An auf. Während der Behandlungsphase mit CA war keine Verschiebung des Aktivitätsgipfels zu verzeichnen, doch fiel die Schwimmaktivität zwischen 11.00 und 13.00 Uhr (also unmittelbar nach der Applikation) stark ab und stieg danach wieder, erreichte 4 Stunden nach Applikation einen 2. Peak, ohne das Niveau der Schwimmaktivität vor der CA-Behand-

lung wesentlich zu überschreiten. Nach der Behandlung mit CA war ebenfalls ein starkes Abfallen der Schwimmaktivität nachzuweisen, diese war zwischen 11.00 und 20.00 Uhr signifikant niedriger als vor der Behandlung (Abb. 18).

Wie die normierten Kurven zeigen, lag das Maximum der Schwimmaktivität vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA immer zwischen 10.00 und 11.00 Uhr (Abb. 19).

Eine Phasenverschiebung in der 24-Stunden-Periode konnte mit Hilfe der Cosinoranalyse nur nach der Behandlungsphase mit CA ermittelt werden. Die Acrophase lag vor der Behandlung bei -200° ≙ 13.21 Uhr, während der Behandlung bei -198° ≙ 13.12 Uhr. Nach der Behandlung lief die Phase um 1 Stunde 39 Minuten vor und lag bei -175,6° ≙ 11.42 Uhr.
Die Phasenschwankung war während der Behandlung am größten.

Die Amplitudengröße (C') stieg während der Behandlung mit CA. Nach der Behandlung war die Amplitude kleiner als vor der Behandlung.

C' vor = 114
C' während = 123
C' nach = 104

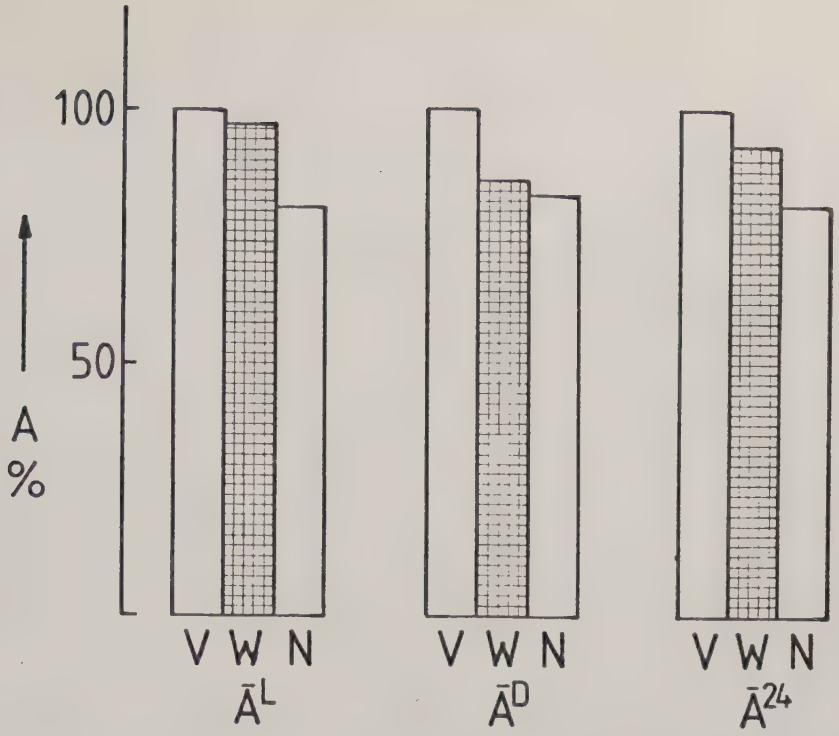



Abb. 17 Relative Schwimmaktivität der Vt vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA im künstlichen Licht-Dunkel-Wechsel

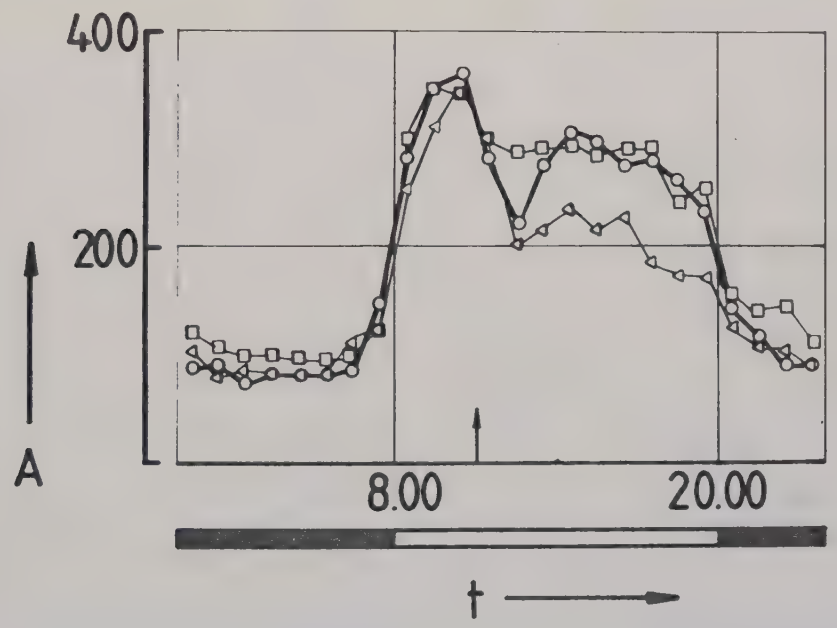



Abb. 18 Absolute Schwimmaktivität (Imp./h) der Vt im Tagesgang

□–□ vor der Behandlungsphase (Bp.) mit CA

○–○ während der Bp. mit CA

▽–▽ nach der Bp. mit CA

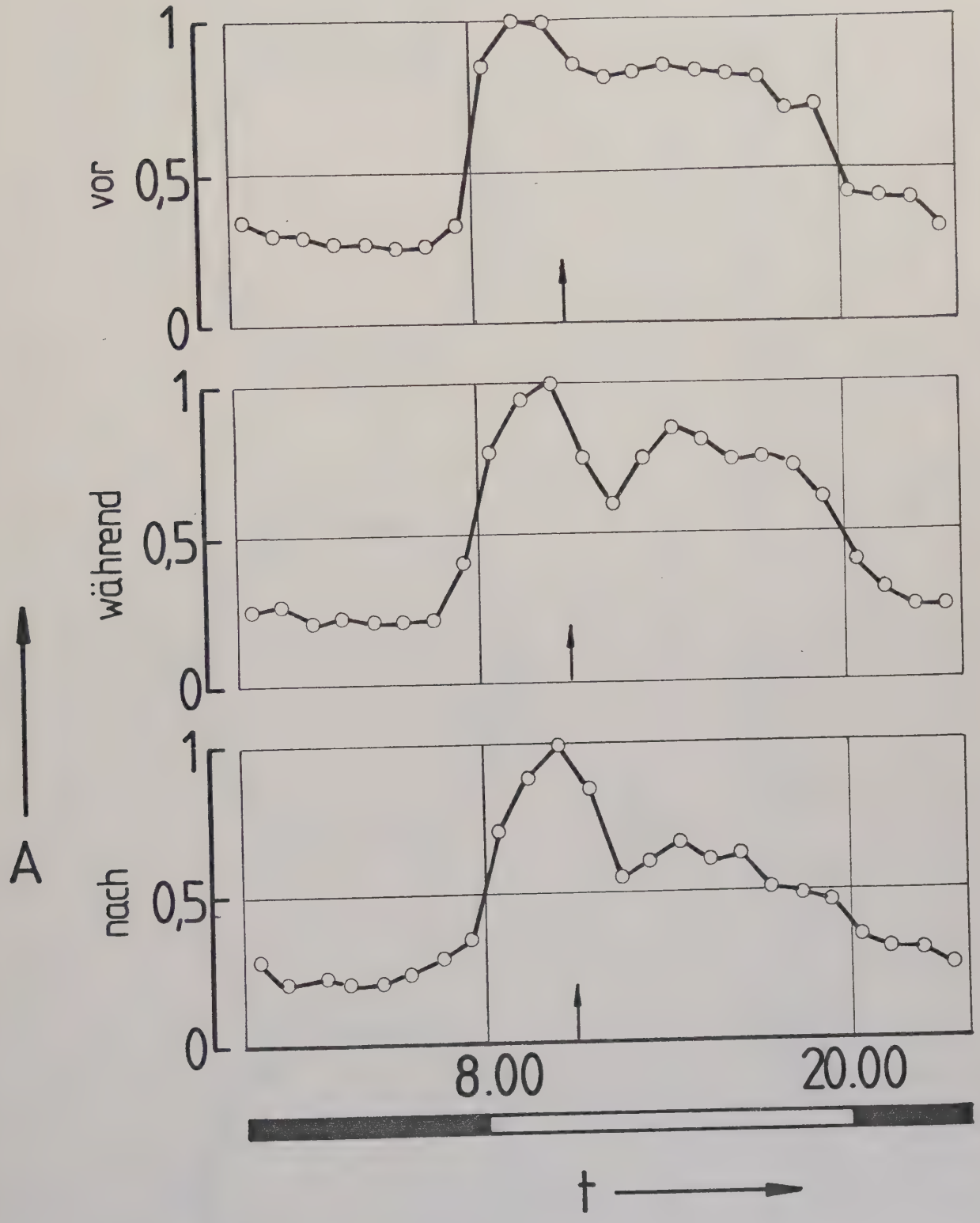
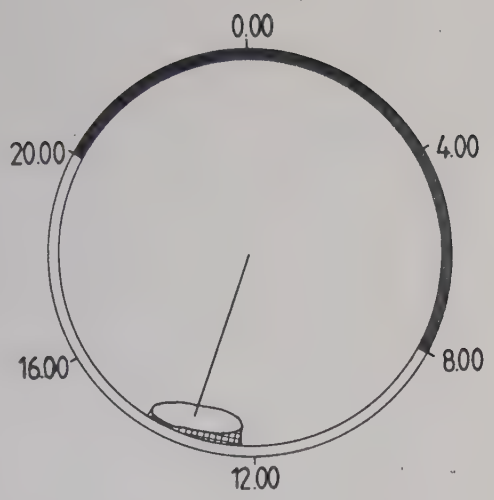
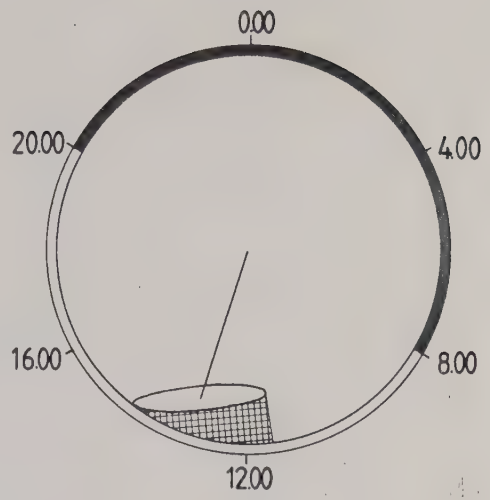



Abb. 19 Relative Schwimmaktivität der Vt vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA



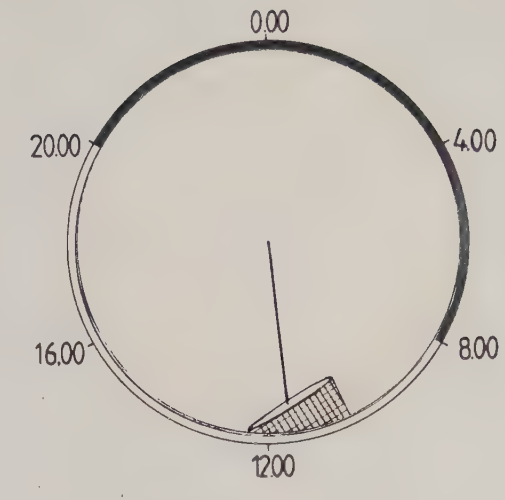

vor

PHI = - 200 ° (13. 21 Uhr)




während

PHI = - 198 ° (13. 12 Uhr)




nach

PHI = - 175 ° (11. 42 Uhr)

Abb. 20 Cosinordarstellung der Periodik der Schwimmaktivität vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA. Kreisschema (15 Grad entsprechen 1 Stunde) mit Vertrauens-Ellipse, die das Vertrauensintervall der Acrophase kennzeichnet.

Versuch $B_1$ (Fütterungs- und Applikationszeit 16.00 Uhr)

Chloramphenicol zeigte hinsichtlich der Wirkung auf die Schwimmaktivität im Tagesgang um 14.00 Uhr verabreicht, ein anderes Ergebnis als bei der Applikation um 11.00 Uhr. Deshalb wurde der Zeitpunkt der Fütterung und Applikation noch einmal verschoben und für den Versuch $B_1$ auf 16.00 Uhr festgelegt. Da für diesen Versuch nur 3 Versuchstiere und eine Kontrolle genutzt werden konnten, erlauben die Ergebnisse nur Trend-Einschätzungen.

Die Fische entstammen dem gleichen Bestand wie die Fische der Versuchsreihe $A_1$ bis $A_5$ (Applikationszeit 11.00 Uhr).

Die normierten Kurven der Schwimmaktivität (Abb. 21) weisen eine deutliche Verschiebung des Zeitmusters während der Chloramphenicolbehandlung auf. Vor und nach der Behandlung lag das Aktivitätsmaximum zwischen 16.00 und 17.00 Uhr, dagegen trat während der Behandlungsphase mit CA das Aktivitätsmaximum zwischen 19.00 und 20.00 Uhr ein, also wieder 4 Stunden nach der Applikation. Die mittlere Schwimmaktivität war während der Behandlung zwischen 17.00 und 20.00 Uhr gegenüber der Schwimmaktivität zwischen 13.00 und 16.00 Uhr zu vor und nach der Behandlung signifikant ($p \leq 0,002$) erhöht.

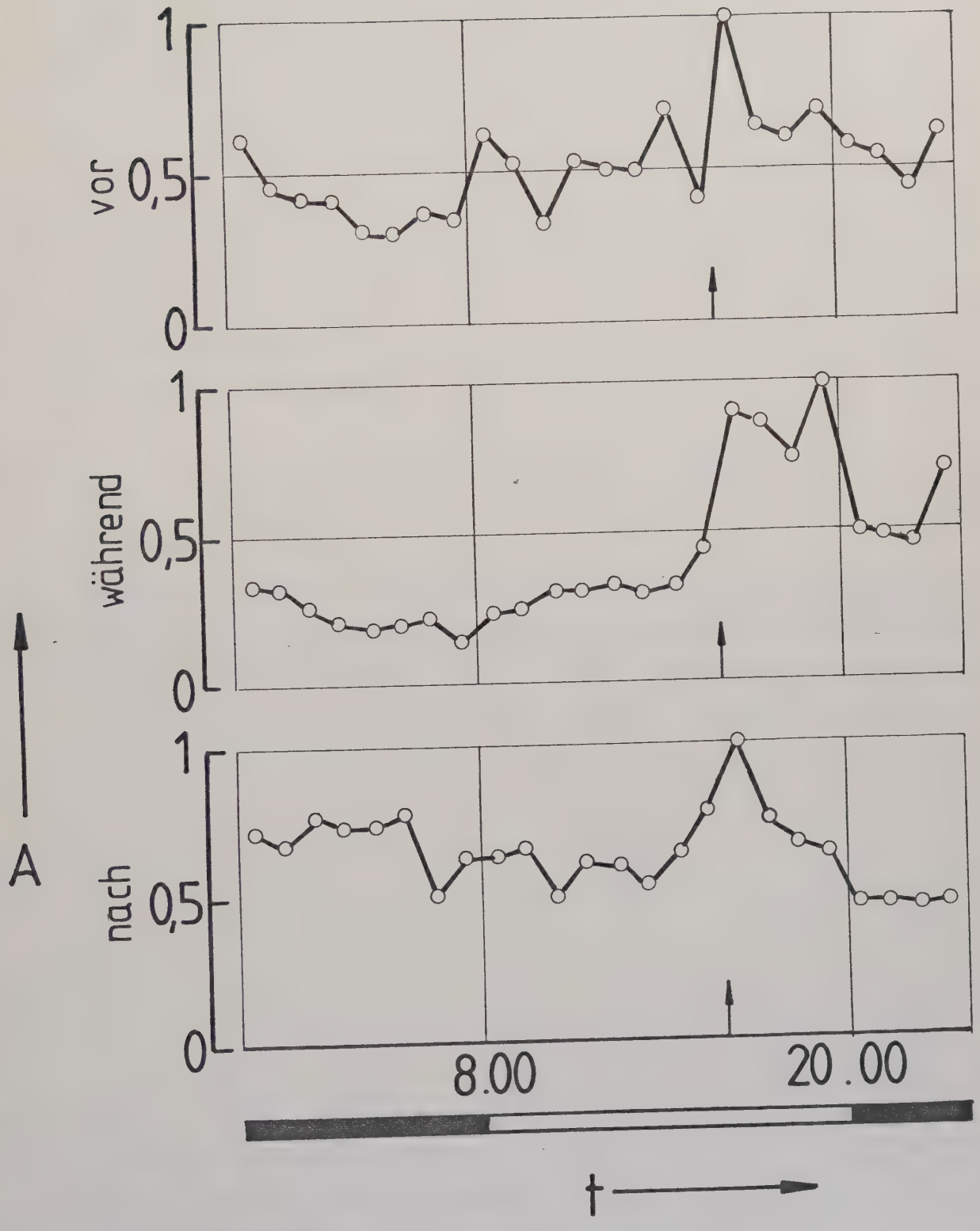



Abb. 21 Relative Schwimmaktivität der Vt vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA.

### 3.1.2. Gruppenhaltung

Durch die Anwesenheit von Artgenossen erhöht sich die lokomotorische Aktivität. Das ist auf eine Vigilanzsteigerung (Wachheitsgrad) und gegenseitige Stimulation zurückzuführen. SIEGMUND (1981) konnte gegenüber Einzeltieren eine Steigerung der Herzrate im Mittel um 17 % und der Schwimmaktivität um 69 % feststellen. Es erschien aus diesem Grunde notwendig, den Einfluß von CA auf die Schwimmaktivität von Fischen, die im Gruppenverband gehalten wurden, zu untersuchen. Die Versuche wurden an Karpfen durchgeführt, die aus verschiedenen Beständen stammten.
Es konnten jedoch nur 2 Versuche (14.00 Uhr) bzw. 1 Versuch (11.00 Uhr) durchgeführt werden.

#### 3.1.2.1. Fütterungs- und Applikationszeit 14.00 Uhr

Gruppenversuch Nr. 1

Während der Behandlungsphase mit CA war ein signifikanter Anstieg der Schwimmaktivität in der Lichtzeit, in der Dunkelzeit und über die gesamte Periode gemittelt zu verzeichnen. Jedoch blieb nur in der Dunkelzeit die Schwimmaktivität nach der Behandlung gegenüber dem Ausgangsniveau signifikant erhöht (Abb. 22).

Tab. 10

| Vt n = 5 | $\bar{A}^L$ | $\bar{s}^L$ | $\bar{A}^D$ | $\bar{s}^D$ | $\bar{A}^{24}$ | $\bar{s}^{24}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| V | 548 | 160 | 388 | 143 | 468 | 186 |
| W | 622 | 224 | 440 | 266 | 531 | 246 |
| N | 514 | 268 | 442 | 240 | 478 | 254 |

Mittlere Schwimmaktivität ($\bar{A}$) und Standardabweichung ($\bar{s}$) vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA in der Lichtzeit (L), in der Dunkelzeit (D) und über die gesamte Periode (24).

Die Schwimmaktivität im Tagesgang zeigte vor, während und nach der Behandlung mit CA einen starken Fütterungsgipfel (Abb. 23). Vor der Behandlung fiel die Schwimmaktivität in der Zeit von 15.00 bis 18.00 Uhr ab, dagegen blieb sie während der Behandlung in dieser Zeit signifikant erhöht. Die maximale Schwimmaktivität während der Behandlung lag zwischen 16.00 und 17.00 Uhr, 3 Stunden nach dem Applikationszeitpunkt.

Gruppenversuch Nr. 2

Abb. 24 zeigt eine signifikante Erhöhung der Schwimmaktivität während der Behandlungsphase mit CA in der Lichtzeit, dagegen ist in der Dunkelzeit eine nicht signifikante Reduzierung der Schwimmaktivität im Vergleich zum Ausgangsniveau festzustellen.
Nach der Behandlung blieb die Schwimmaktivität signifikant erhöht. In der Dunkelzeit ist das Ausgangsniveau wieder erreicht.

Tab. 11

| Vt n = 5 | $\bar{A}^L$ | $\bar{s}^L$ | $\bar{A}^D$ | $\bar{s}^D$ | $\bar{A}^{24}$ | $\bar{s}^{24}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| V | 670 | 226 | 336 | 150 | 504 | 242 |
| W | 754 | 240 | 296 | 122 | 524 | 286 |
| N | 782 | 214 | 332 | 175 | 556 | 382 |

Mittlere Schwimmaktivität ($\bar{A}$) und Standardabweichung ($\bar{s}$) vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA in der Lichtzeit (L), in der Dunkelzeit (D) und über die gesamte Periode (24).

Die Schwimmaktivität im Tagesgang (Abb. 25) zeigte vor, während und nach der Behandlung einen "Lichtgipfel" und einen starken Anstieg zur Fütterungs- bzw. Applikationszeit. Vor der Behandlung fiel die Schwimmaktivität zwischen 15.00 und 20.00 Uhr ab und war zwischen 15.00 und 18.00 Uhr signifikant niedriger im Vergleich zu der während und nach der Behandlung.

Die maximale Aktivität lag während der Behandlung zwischen 16.00 und 17.00 Uhr, d. h. sie trat 3 Stunden nach Applikationszeitpunkt auf. Vor und nach der Behandlung war die Maximalaktivität zwischen 14.00 und 15.00 Uhr zu verzeichnen.
Mit diesen Ergebnissen kann die gleichgerichtete tagesrhythmische Veränderung der A bei CA-Applikation bei Einzel- und Gruppenhaltung während der Behandlung nachgewiesen werden.

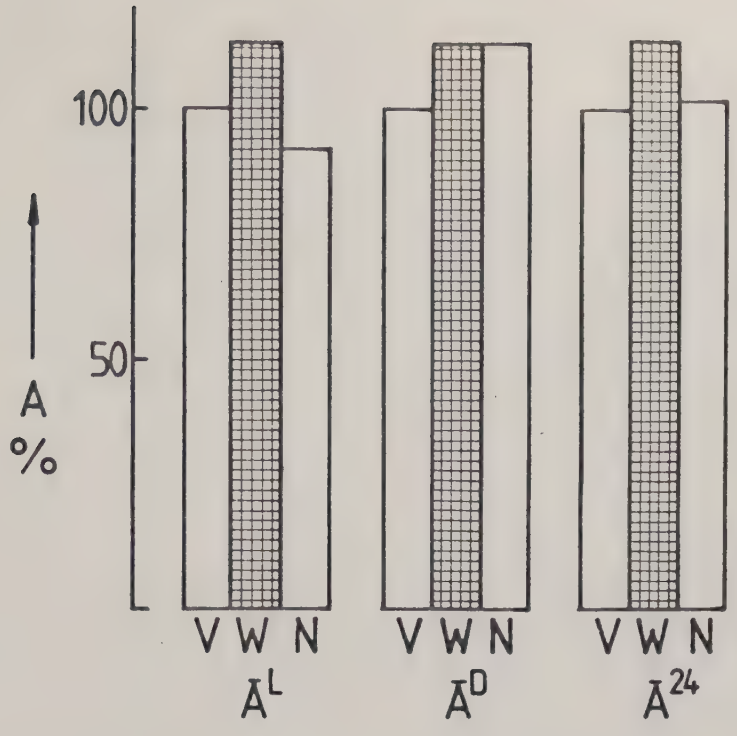



Abb. 22 Relative Schwimmaktivität vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA im künstlichen Licht-Dunkel-Wechsel

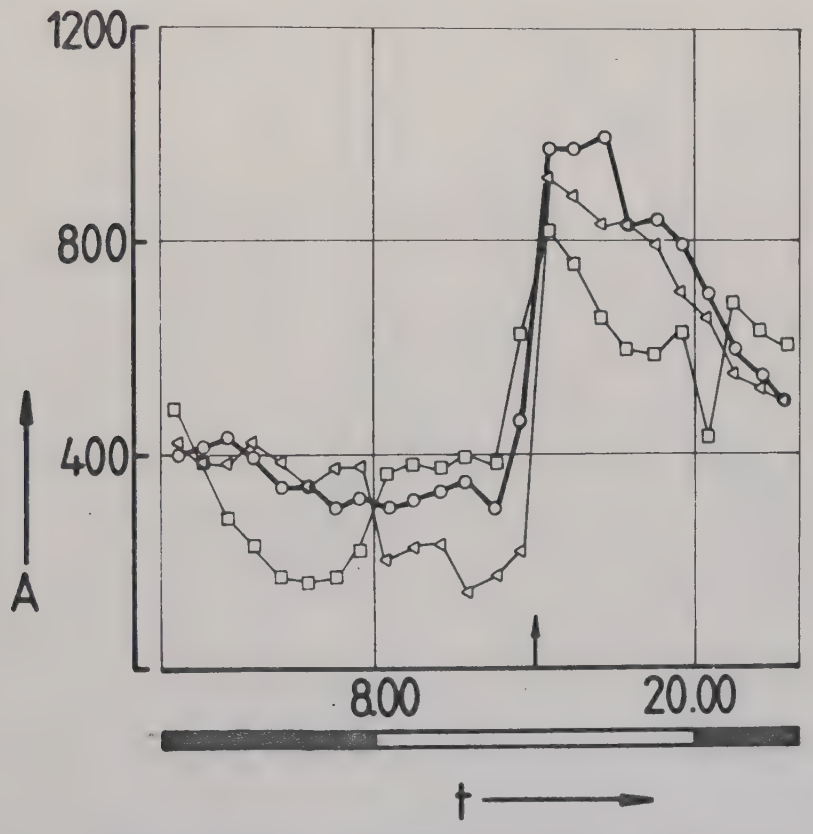



Abb. 23 Absolute Schwimmaktivität (Imp./h) im Tagesgang

□—□ vor der Behandlungsphase (Bp.) mit CA
○—○ während der Bp. mit CA
▽—▽ nach der Bp. mit CA

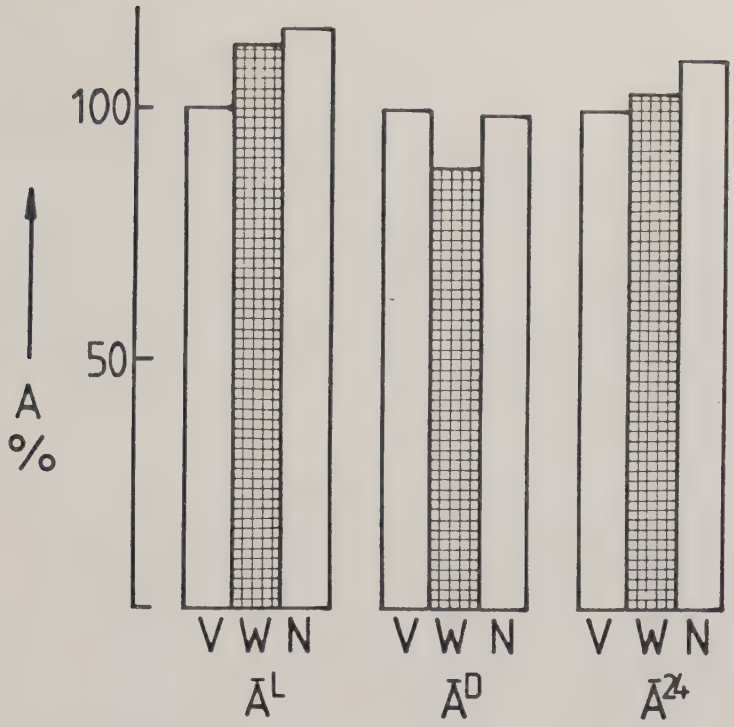



Abb. 24 Relative Schwimmaktivität vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA im künstlichen Licht-Dunkel-Wechsel

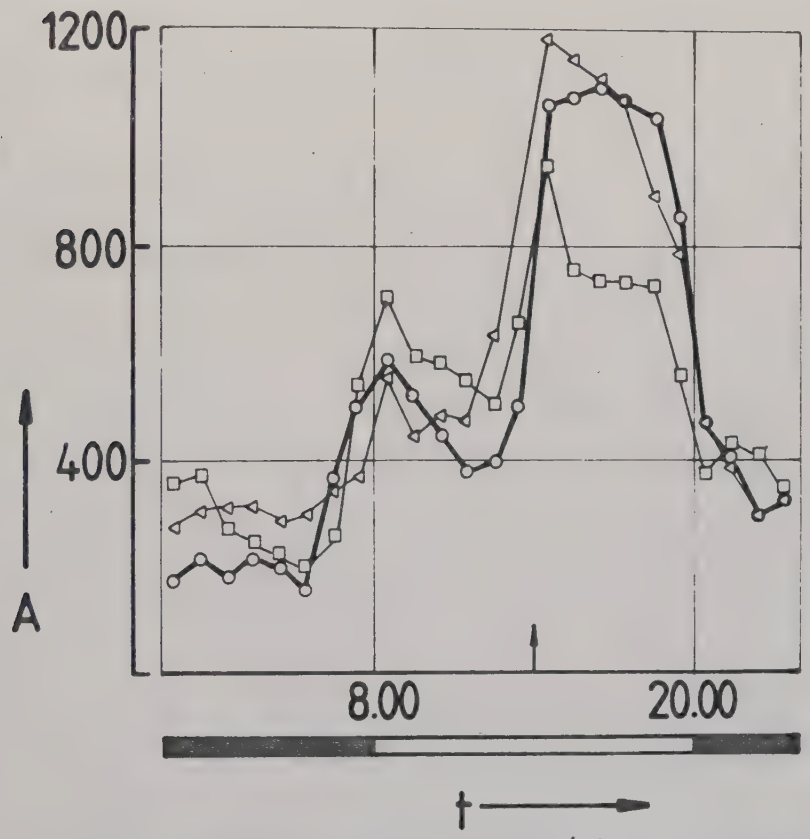



Abb. 25 Absolute Schwimmaktivität (Imp./h) im Tagesgang

□–□ vor der Behandlungsphase (Bp.) mit CA
○–○ während der Bp. mit CA
▽–▽ nach der Bp. mit CA

### 3.1.2.2. Fütterungs- und Applikationszeit 11.00 Uhr

Die Schwimmaktivität in der Lichtzeit, in der Dunkelzeit und über die gesamte Periode gemittelt, zeigte keine signifikanten Unterschiede während und nach der Behandlung mit CA im Vergleich zum Ausgangsniveau. Während der Behandlung war eine starke Verringerung der Schwimmaktivität in der Dunkelphase zu verzeichnen (Abb. 26).

Tab. 12

| Vt n = 3 | $\bar{A}^{L}$ | $\bar{s}^{L}$ | $\bar{A}^{D}$ | $\bar{s}^{D}$ | $\bar{A}^{24}$ | $\bar{s}^{24}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| V | 616 | 370 | 108 | 78 | 358 | 224 |
| W | 680 | 214 | 78 | 32 | 378 | 123 |
| N | 656 | 242 | 116 | 66 | 386 | 154 |

Mittlere Schwimmaktivität ($\bar{A}$) und Standardabweichung ($\bar{s}$) vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA in der Lichtzeit (L), in der Dunkelzeit (D) und über die gesamte Periode (24).

Wie die Mittelwertskurven (Abb. 27) ausweisen, war ein starker Anstieg der Schwimmaktivität gleich nach Licht-An zu verzeichnen. Zwischen 9.00 und 10.00 Uhr trat vor, während und nach der Behandlung die maximale lokomotorische Aktivität auf (Fütterungsgipfel). Ein zweiter Aktivitätsgipfel stellte sich zwischen 17.00 und 18.00 Uhr ein, der während der CA-Behandlung verstärkt war. Eine Veränderung der Schwimmaktivität im Tagesgang konnte nicht nachgewiesen werden. Wie bei den Versuchen der Einzelhaltung (11.00 Uhr) bleibt die Tagesrhythmik der A erhalten.

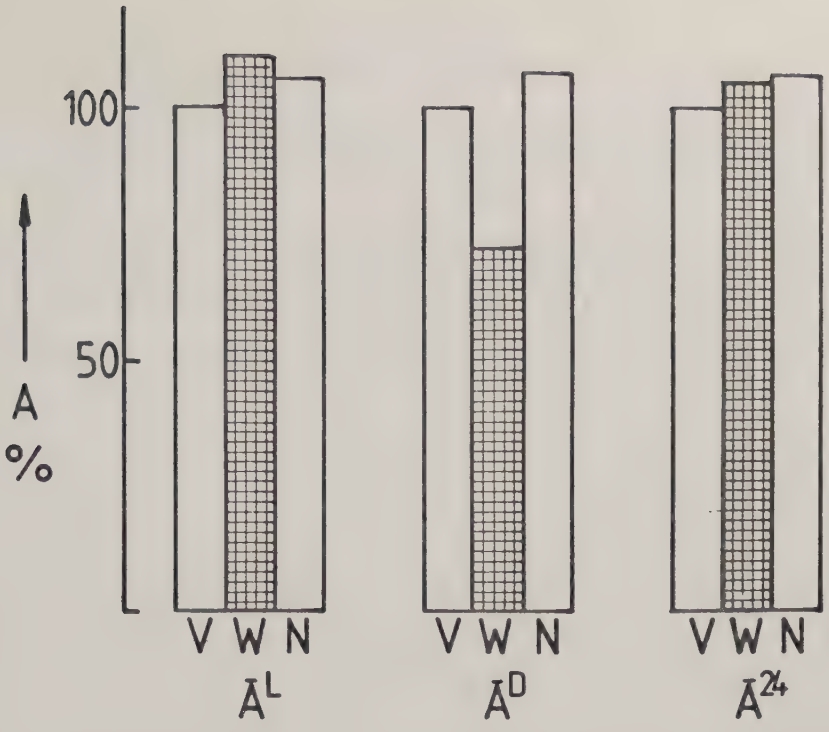



Abb. 26 Relative Schwimmaktivität vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA im künstlichen Licht-Dunkel-Wechsel

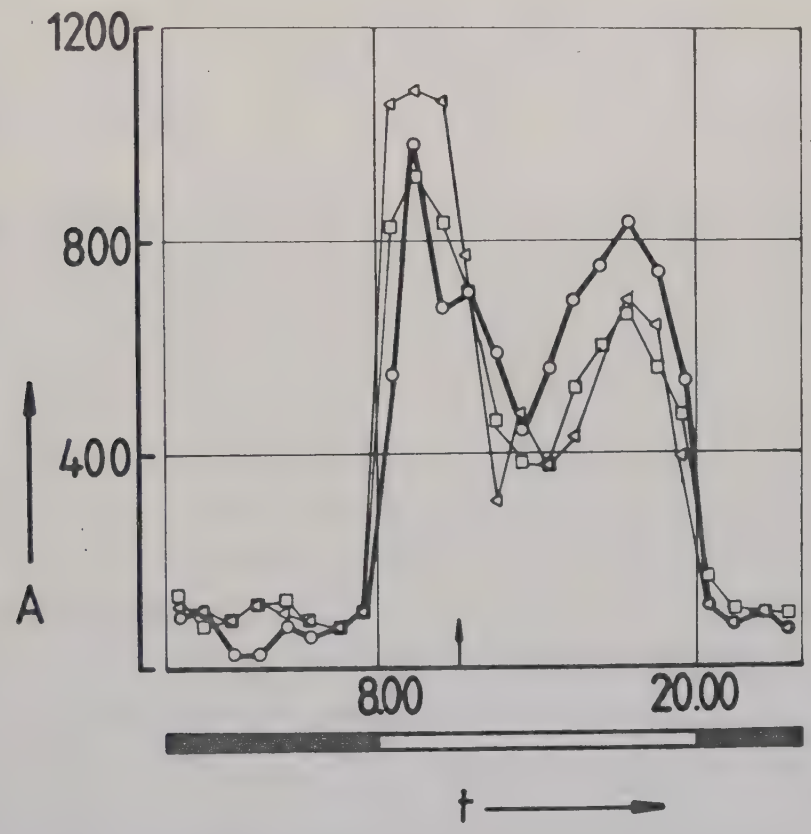



Abb. 27 Absolute Schwimmaktivität (Imp. /h) im Tagesgang

□–□ vor der Behandlungsphase (Bp.) mit CA
○–○ während der Bp. mit CA
△–△ nach der Bp. mit CA

## 3.2. Untersuchungen unter Freilandbedingungen

### 3.2.1. Fütterungs- und Applikationszeitpunkt 14.00 Uhr

Die Schwimmaktivität der Forellen stieg während der Behandlungsphase mit CA über die gesamte Periode ($\bar{A}^{24}$) im Vergleich zum Ausgangsniveau an. Nach der Behandlung fiel die Schwimmaktivität wieder (Abb. 28).

Tab. 13

| G = 4<br>n = 40 | $\bar{A}^{24}$ | $\bar{s}^{24}$ |
|---|---|---|
| V | 111 | 82 |
| W | 125 | 98 |
| N | 116 | 81 |

Mittlere Schwimmaktivität ($\bar{A}$) und Standardabweichung ($\bar{s}$) vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA über die gesamte Periode (24).

Die Mittelwertskurven (Abb. 29) zeigen vor und nach der Behandlung mit CA einen Aktivitätsgipfel in den Vormittagsstunden. Die Fütterung um 14.00 Uhr führte zu keinem ausgeprägten Fütterungsgipfel. Während der Behandlungsphase mit CA war eine Aktivitätssteigerung nach der täglichen Applikation zu verzeichnen, die zwischen 17.00 und 18.00 Uhr ihren Maximalwert erreichte. Das Aktivitätsniveau unterscheidet sich innerhalb dieser Stunde von den entsprechenden Werten vor und nach der Behandlung signifikant.
Die normierten Kurven (Abb. 30) weisen vor der Behandlung ein Aktivitätsmaximum zwischen 11.00 und 12.00 Uhr und nach der Behandlung zwischen 9.00 und 10.00 Uhr auf, dagegen war während der Behandlung das Aktivitätsmaximum in die späten Nachmittagsstunden verlagert und lag bei 18.00 Uhr, d. h. 4 Stunden nach der CA-Applikation.

Die Phasenverschiebung in der 24-Stunden-Periode, durch die Cosinoranalyse ermittelt, betrug 1 Stunde und 17 Minuten während der Behandlungsphase mit CA im Vergleich zu vor der Behandlung. Die Phase läuft zurück. Die Acrophase vor der Behandlung liegt bei -176° ≙ 11.47 Uhr, während der Behandlung bei -196° ≙ 13.04 Uhr, 7 Tage nach der Behandlung bei -186° ≙ 12.24 Uhr und nach 14 Tagen liegt die Acrophase wieder bei -178° ≙ 11.52 Uhr und entspricht damit der Ausgangslage. Die Phase zeigte vor der Behandlung eine geringe Schwankung. Während und nach der Behandlung streuten die Werte beträchtlich (Abb. 31).

Die Amplitude fiel während der Behandlung. Nach der Behandlung erreichte sie wieder den Ausgangswert.

C' vor = 54
C' während = 47
C' nach = 53

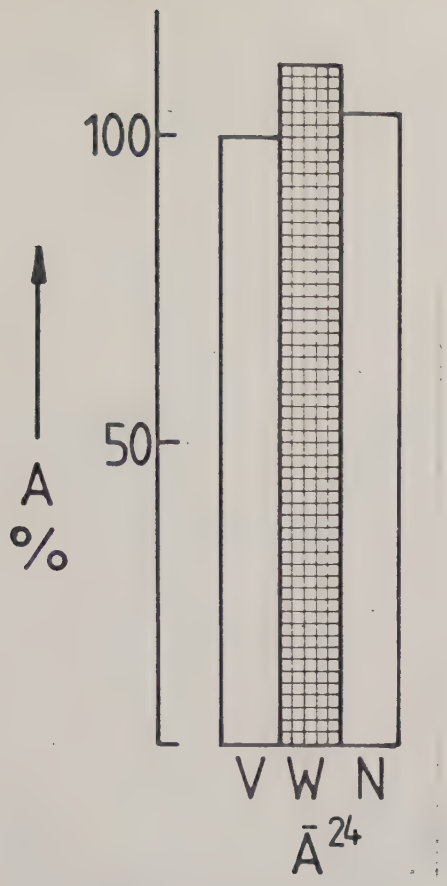



Abb. 28 Relative Schwimmaktivität vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA

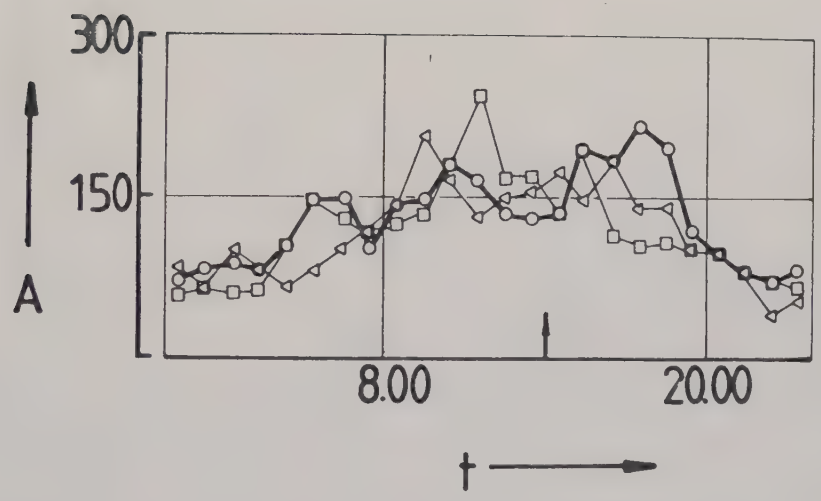



Abb. 29 Absolute Schwimmaktivität (Imp. /h) im Tagesgang

□ – □ vor der Behandlungsphase (Bp.) mit CA
○ – ○ während der Bp. mit CA
△ – △ nach der Bp. mit CA

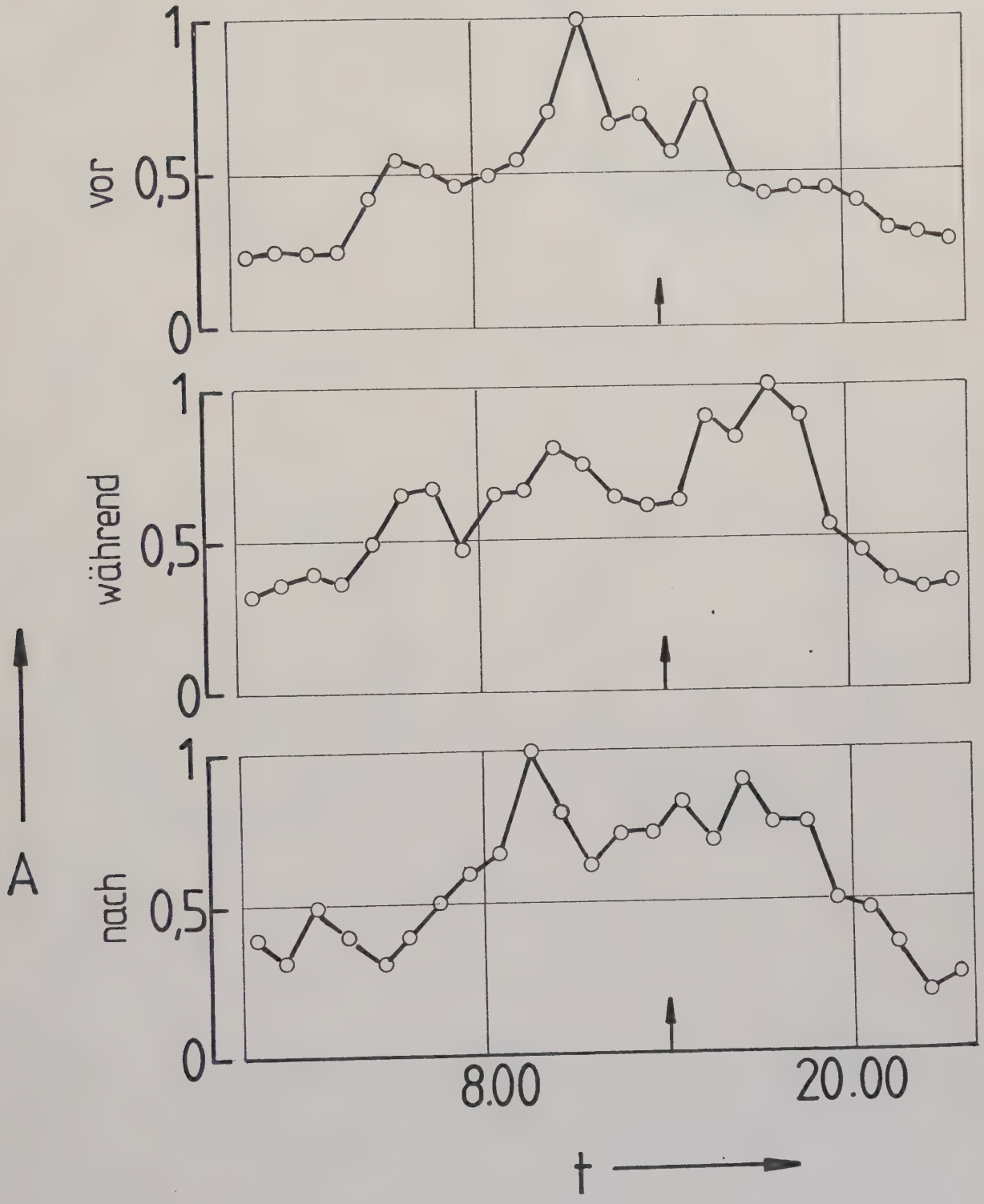
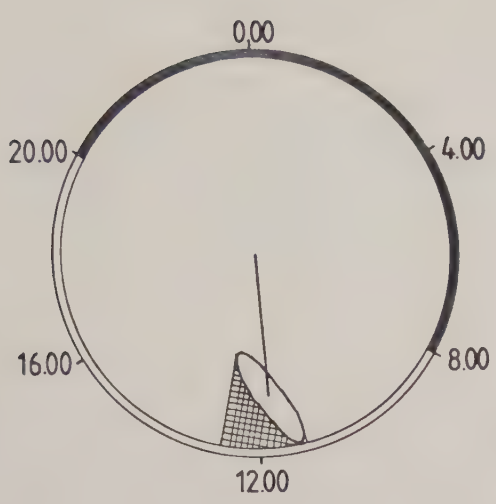
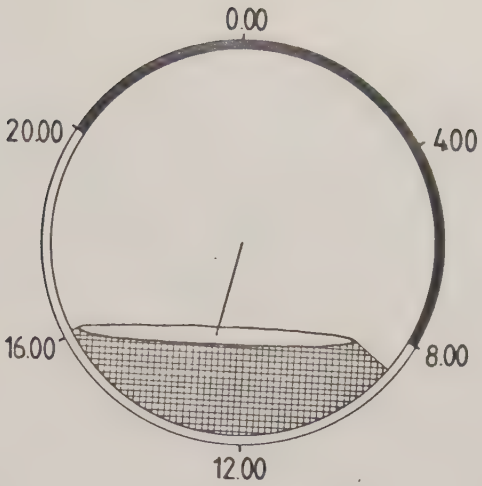



Abb. 30 Relative Schwimmaktivität der Vt vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA



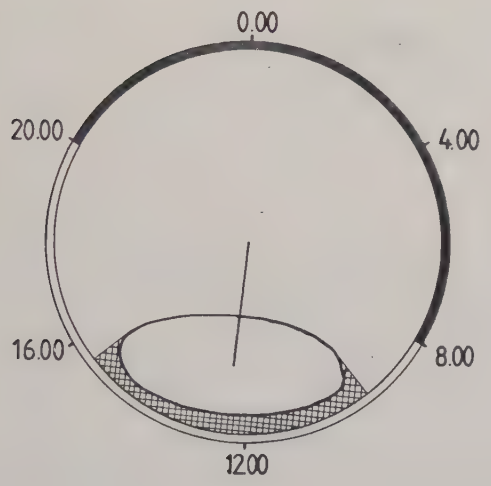

vor

PHI = - 176° (11.47 Uhr)



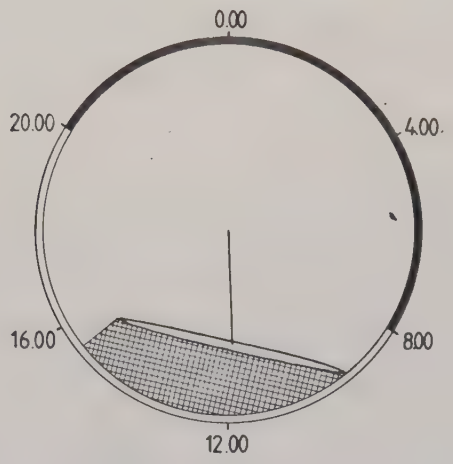

während

PHI = - 196° (13.04 Uhr)




nach (7 Tage)

PHI = - 186° (12.24 Uhr)




nach (14 Tage)

PHI = - 178° (11.52 Uhr)

Abb. 31 Cosinordarstellung der Periodik der Schwimmaktivität vor, während und nach der Behandlung mit CA. Kreisschema (15 Grad entsprechen 1 Stunde) mit Vertrauens-Ellipse, die das Vertrauensintervall der Acrophase kennzeichnet

### 3.2.2. Fütterungs- und Applikationszeit 11.00 Uhr

Während der Behandlungsphase war gegenüber dem Ausgangsniveau keine Veränderung der Schwimmaktivität über die gesamte Periode ($\bar{A}^{24}$) zu verzeichnen (Abb. 32). Nach der Behandlung verringerte sich die Schwimmaktivität im Vergleich zum Ausgangsniveau signifikant.

Tab. 14

| G = 4<br>n = 40 | $\bar{A}^{24}$ | $\bar{s}^{24}$ |
|---|---|---|
| V | 197 | 124 |
| W | 195 | 119 |
| N | 157 | 96 |

Mittlere Schwimmaktivität ($\bar{A}$) und Standardabweichung ($\bar{s}$) vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA in der gesamten Periode (24).

Vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA ließ die Schwimmaktivität im Tagesgang (Abb. 33) zwischen 11.00 und 12.00 Uhr einen Gipfel erkennen. Dieser Aktivitätsgipfel fiel mit der Fütterung zusammen.
Während der CA-Behandlung ist unmittelbar nach der Fütterung bzw. Applikation ein Abfall der Aktivität, ähnlich wie vor und nach der Behandlung zu erkennen. Jedoch stieg die Aktivität noch einmal deutlich an und erreichte erneut zwischen 14.00 und 15.00 Uhr einen Gipfel, ohne den Maximalwert zu überschreiten (Abb. 34). Der Aktivitätsunterschied zwischen 14.00 und 15.00 Uhr während der Behandlung im Vergleich zu vor der Behandlung ist signifikant.

Die Cosinoranalyse wies eine Phasenverschiebung in der 24-Stunden-Periode während der CA-Behandlung um 49 Minuten nach. Nach der Behandlung lief die Phase noch weiter zurück, so daß die Phasenverschiebung im Vergleich zu vor der Behandlung 1 Stunde 29 Minuten betrug.

Während der Behandlung schwankte die Phase am geringsten (Abb. 35).

Eine Abnahme der Amplitude war während der Behandlung zu verzeichnen. Nach der Behandlung erreichte die Amplitude einen höheren Wert als vorher.

C' vor = 83

C' während = 75

C' nach = 95

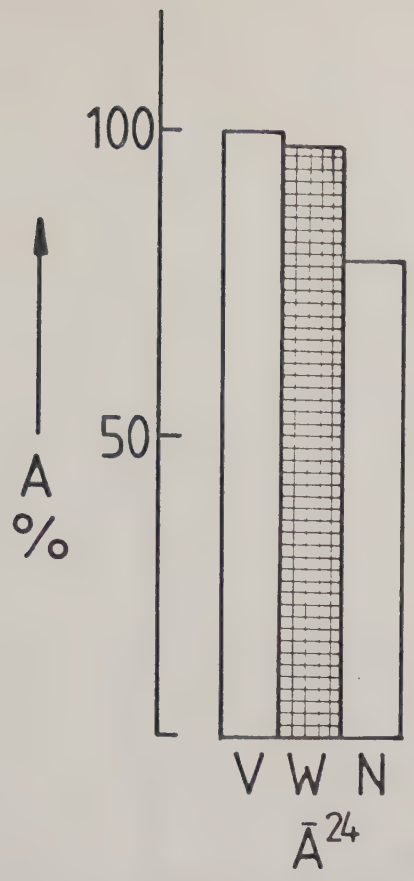



Abb. 32 Relative Schwimmaktivität vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA

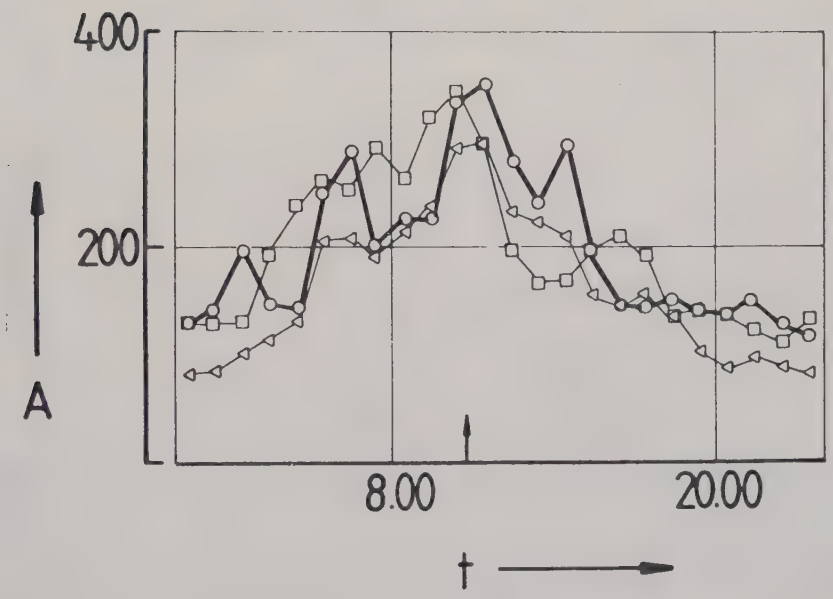



Abb. 33 Absolute Schwimmaktivität (Imp. /h) im Tagesgang

□ – □ vor der Behandlungsphase (Bp. ) mit CA
○ – ○ während der Bp. mit CA
△ – △ nach der Bp. mit CA

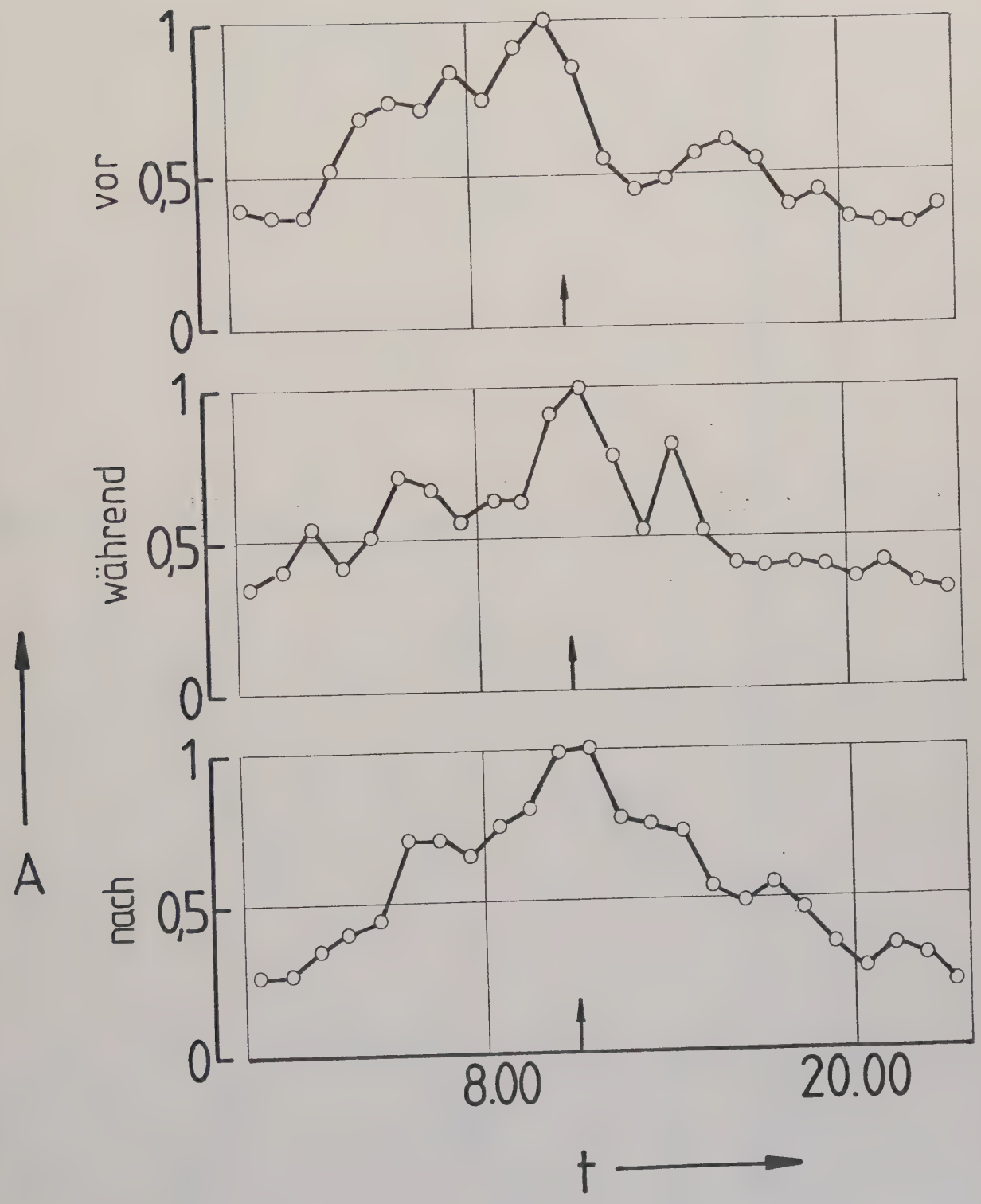
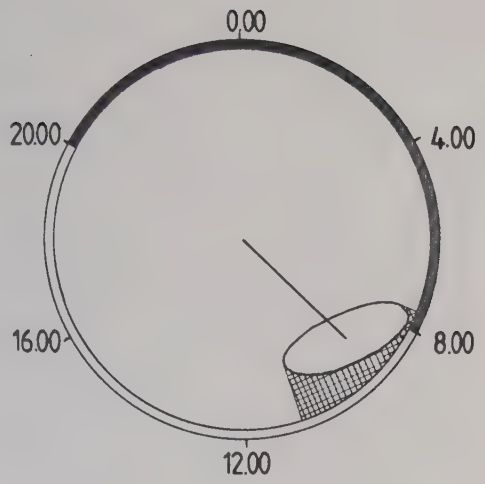
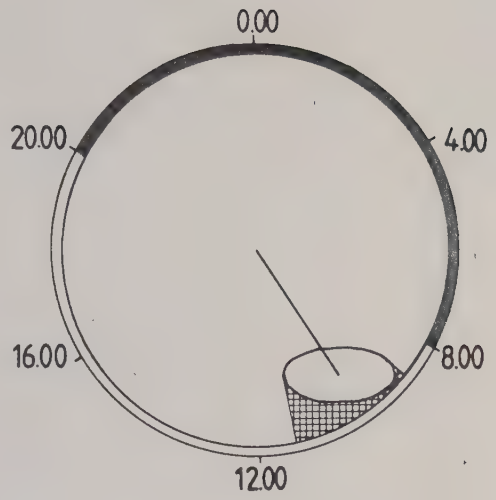



Abb. 34 Relative Schwimmaktivität der Vt vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA



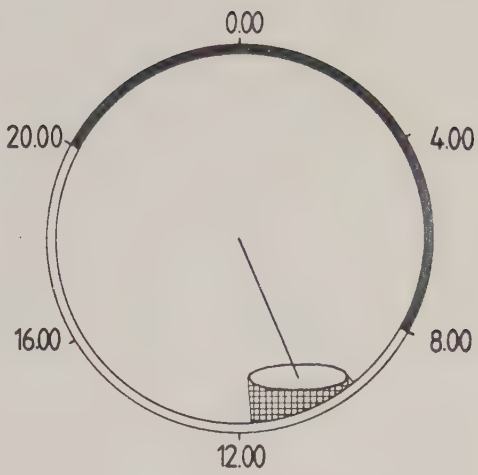

vor

PHI = - 134° (8.59 Uhr)




während

PHI = - 147° (9.48 Uhr)




nach

PHI = - 157° (10.28 Uhr)

Abb. 35 Cosinordarstellung der Periodik der Schwimmaktivität vor, während und nach der Behandlungsphase mit CA. Kreisschema (15 Grad entsprechen 1 Stunde) mit Vertrauens-Ellipse, die das Vertrauensintervall der Acrophase kennzeichnet.

## 3.3. Herzfrequenzuntersuchungen an Karpfen

### 3.3.1. Zwangsapplikation von Chloramphenicol

Eine einmalige Zwangsapplikation von CA bewirkte bei Karpfen ein kurzzeitiges Ansteigen der Herzrate (Abb. 36). Bei der Kontrolle fällt die Herzrate (Hr) während einer Stunde auf das Ausgangsniveau. Dagegen bleibt die Hr bei den CA-behandelten Fischen über mehrere Stunden um etwa 100 % erhöht. Nach 10 Stunden ist noch eine erhöhte Hr festzustellen. Für die auf Abb. 36 dargestellte Zeit von 130 Minuten nach der Applikation ist der Unterschied der Hr zwischen behandelten und Kontrolltieren signifikant ($p \leq 0,01$).
Die mittlere Herzrate der CA-behandelten Fische nach der Applikation beträgt

$$Hr = (62 \pm 6)\ min^{-1},$$

die der Kontrolltiere

$$Hr = (43 \pm 6)\ min^{-1}.$$

### 3.3.2. Applikation von Chloramphenicol über das Futter

Eine einmalige Futtergabe mit und ohne Chloramphenicol bewirkte eine Erhöhung der Hr. Jedoch konnte bei den CA-behandelten Fischen eine signifikant ($p \leq 0,01$) höhere Hr im Vergleich zur Kontrolle für 180 Minuten nach der Applikation nachgewiesen werden. Die mittlere Herzrate der mit CA-behandelten Fische nach der Applikation beträgt

$$Hr = (75 \pm 6)\ min^{-1},$$

die der Kontrolltiere

$$Hr = (64 \pm 4)\ min^{-1}.$$

Eine erhöhte Hr der CA-behandelten Fische konnte ebenfalls über 10 Stunden festgestellt werden.

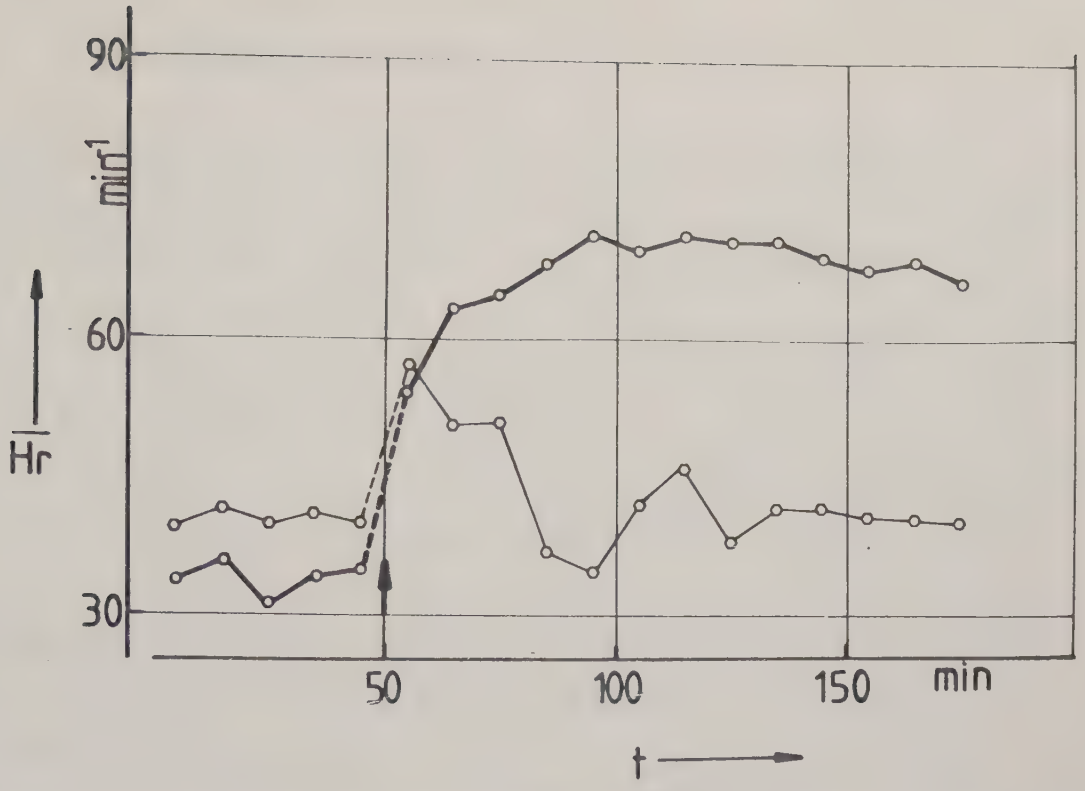



Abb. 36 Herzrate nach einmaliger Applikation von CA p. o. Zwangsapplikation

○–○ CA-behandelte Tiere; ⬡–⬡ Kontrolltiere

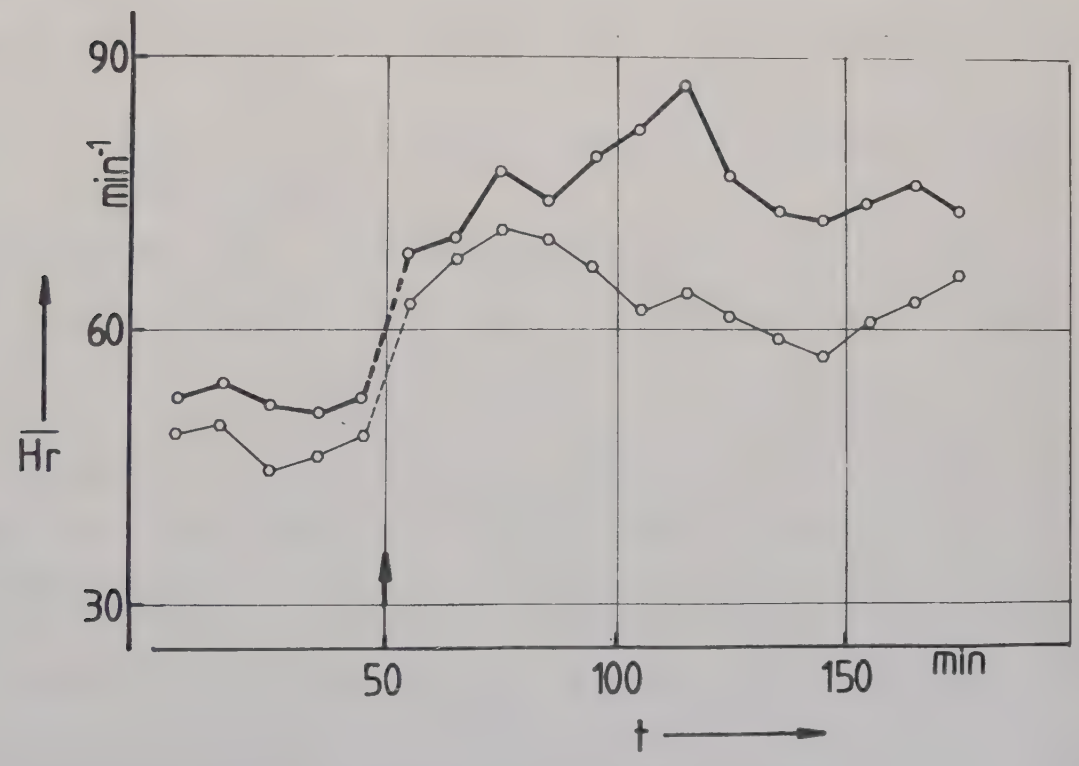



Abb. 37 Herzrate nach einmaliger Applikation von CA p. o. über das Futter

○–○ CA-behandelte Tiere; ⬡–⬡ Kontrolltiere

## 4. Diskussion

In den letzten Jahren gewinnt auf dem Gebiet der Arzneimittelforschung die Chronopharmakologie eine zunehmende Bedeutung. Sie bildet nach REINBERG (1978) eine experimentelle Grundlage der Chronotherapie und umfaßt sowohl die Aufklärung der Wirkung von Arzneimitteln in Abhängigkeit von dem biologisch-physiologischen Zeitablauf des Organismus als auch die Beeinflussung tagesrhythmisch verlaufender Parameter. Für eine Vielzahl von verschiedenen Arzneimitteln und Substanzen sind chronopharmakologische Einflüsse vor allem im Hinblick auf eine von der Tageszeit abhängige Wirkung nachgewiesen. Jedoch gibt es nur wenige Pharmaka, von denen bekannt ist, daß sie die endogene Tagesrhythmik spezifisch beeinflussen (KÜNAST und RENNER 1981).

Gesicherte Ergebnisse bei Tieren, Pflanzen oder beim Menschen liegen für die Substanzen Äthylalkohol (BÜNNING und BALTES 1963, ENRIGHT 1971 a), schweres Wasser (BRUCE und PITTENDRIGH 1960, PALMER und DOWSE 1969, RICHTER 1970, ENRIGHT 1971 b), Theophyllin (KELLER 1969) und Lithiumionen vor (TUPIN 1970, MELLERUP et al. 1978, KRIPKE et al. 1979, JOHNSSON et al. 1979). Diese Substanzen bewirken eine Veränderung der Periodendauer freilaufender zirkadianer Rhythmen.

BÜHNEMANN (1955) konnte an Hand der Sporulationsrhythmik an Oedogonium nachweisen, daß die geprüften Stoffe (NaCN, 2,4-DNP, NaF, Na-Arsenat, Jodessigsäure, Chinin, $CuSO_4$, Kokain, ß-Indolylessigsäure, ATP, Riboflavin und Saccharose) die Periodenlängen nicht beeinflussen. Solange der untersuchte physiologische Vorgang überhaupt noch abläuft, bleibt er in BÜHNEMANNS Versuchen auch tagesperiodisch bei Verringerung der Amplituden der Sporulationsrhythmik.

BÜNNING (1956) kann für Colchicin, Phenylurethan und Urethan auffällige Unregelmäßigkeiten im Gang der endogenen Tagesrhythmik mit periodenverlängernder Wirkung bei Pflanzen nachweisen. Er weist darauf hin, daß es jedenfalls interessant sei, daß gerade solche Drogen, die eine cytoplasmatische Ordnung stören, auch endogene Rhythmen beeinflussen können.

Die von KÜNAST und RENNER (1981) getesteten Substanzen Theophyllin, Theobromin und Äthylalkohol verlängerten ab einer bestimmten Konzentration die Periodenlänge freilaufender Rhythmen von Flußkrebsen (Dauerdunkel). Cycloheximid, das bei Ein- und Vielzellern die Proteinsynthese hemmt und den RNS-Stoffwechsel stört, hatte ebenfalls konzentrationsabhängig, Wegfall der Rhythmik mit je nach dem Zeitpunkt der Applikation unterschiedlich hohem Aktivitätsniveau zur Folge. Die Autoren sehen einen Zusammenhang zwischen der zentralen Steuerung der Aktivitätsrhythmik und der Protein- und RNS-Synthese.

CA kam in den vorliegenden Versuchen unter künstlichem Licht-Dunkel-Wechsel, bzw. unter natürlichen Lichtverhältnissen zur Anwendung. Der Einfluß auf eine periodenverändernde Wirkung wurde somit nicht untersucht, da die Tiere täglich neu synchronisiert wurden.

Bei der Zwangsapplikation von CA (Karpfen unter Laborbedingungen) ist sowohl bei den Versuchstieren als auch bei den Kontrolltieren eine Reduzierung der Schwimmaktivität während der 5tägigen Behandlungsphase nachzuweisen. Deshalb ist anzunehmen, daß mehr die Art und Weise der Applikation einen Einfluß auf das lokomotorische Verhalten in dieser Zeit hat, als das Chloramphenicol selbst. Das Nichterreichen des Ausgangsniveaus der Schwimmaktivität der Versuchstiere nach der Behandlung läßt allerdings auf eine CA-Wirkung schließen.

Nebenwirkungen von Chloramphenicol bei Fischen sind als Veränderungen im Blutbild nachgewiesen (KREUTZMANN 1978, REIDE 1979). Bei der von REIDE (1979) benutzten Methode der Zwangsapplikation konnten bei den Kontrollfischen Veränderungen des Blutbildes festgestellt werden. Diese Methode wird deshalb als genereller Behandlungsstress (Herausnehmen der Fische aus dem Wasser, Einführen der Schlundsonde und Applikation) diskutiert. Somit ist es wahrscheinlich, daß bei Fischen unter Belastungen, eine CA-Applikation diese summativ verstärkt und es in unserem Falle zu einer mehrtägigen signifikanten Verringerung der Lokomotion kommt (14 Tage nach der Behandlung).

Diese Ergebnisse der Versuche bei Zwangsapplikation gaben daher Anlaß, die Methodik der Verabreichung des CA zu verändern.
Chloramphenicol um 14.00 Uhr über das Futter appliziert, führt weniger zu einer Verringerung der Schwimmaktivität während der Behandlung, als vielmehr zu einer Veränderung des Zeitmusters. So konnte bei den einzeln gehaltenen Karpfen eine Aktivitätsverschiebung, die 4 Stunden nach der Applikation ihren Maximalwert erreicht und eine Phasenverschiebung der Aktivität in der 24-Stunden-Periode um 1 Stunde 55 Minuten nachgewiesen werden.
Ein Wiederholungsversuch mit Fischen aus einem anderen Bestand bestätigte dieses Ergebnis. Die Phasenverschiebung war fast zeitgleich (1 Stunde 51 Minuten). Die maximale Aktivität während der Behandlung trat um 18.00 Uhr 4 Stunden nach der Applikation auf.
Da bei den Kontrolltieren beider Versuche das Aktivitätsmuster diese Veränderung nicht zeigte, könnte dieser Effekt durch Chloramphenicol induziert sein.
Die Untersuchungen an Regenbogenforellen unter Freilandbedingungen ergaben ebenfalls eine signifikante Aktivitätsverschiebung während der Behandlung, wenn CA um 14.00 Uhr verabreicht wurde. Um 18.00 Uhr - 4 Stunden nach der Applikation - erreicht die Aktivität wieder ein Maximum. Auch eine deutliche Phasenverschiebung von 1 Stunde 17 Minuten in der 24-Stunden-Periode ist zu verzeichnen.

Bei den Karpfen im Gruppenverband konnte eine Verschiebung der maximalen Aktivität von 3 Stunden während der Behandlung nachgewiesen werden. Die Niveaus der Gruppenaktivitäten unterschieden sich während der Behandlung zwischen 15.00 und 18.00 Uhr signifikant von denen vor der Behandlung ($p \leq 0,01$).
Bei allen Versuchen, bei denen CA um 14.00 Uhr verabreicht wurde, treten also während der Behandlung im Vergleich zu vor der Behandlung Aktivitätsverschiebungen um 4 Stunden unmittelbar nach der Applikation bei signifikanter Veränderung des Aktivitätsniveaus auf. Nach der Behandlung erfolgt eine Rückverlagerung des Aktivitätsmaximums bzw. ein Vorlaufen der Phase in Richtung Ausgangsniveau, z. B. liegt

die Phase der 24-Stunden-Periode bei den Forellen nach der Behandlung wieder zur gleichen Zeit wie vor der Behandlung.
Nach der Behandlung bleibt eine erhöhte Aktivität zwischen 15.00 und 18.00 Uhr vor allem bei den Karpfengruppen bestehen. So scheint eine Aktivitätserhöhung durch die CA-Behandlung im Gruppenverband eine länger andauernde Wirkung zu haben. Ob das auf eine nachhaltige CA-Wirkung zurückzuführen ist, oder auf wechselseitige Aktivierung im Gruppenverband, kann daraus nicht geschlußfolgert werden. Allerdings ist bekannt, daß Pharmaka unter gleichen Bedingungen appliziert, unterschiedliche Effekte auf Versuchstiere hervorrufen können, je nach dem ob sie in Gruppen oder einzeln gehalten werden (WOLFF 1983). SIEGMUND (1981) fand bei prinzipiell erhöhter Herzrate und Schwimmaktivität eine stabilisierende Wirkung der Gruppe, ausgedrückt in geringeren Varianzen der Herzrate als bei Einzelhaltung.

Nach MAYERSBACH (1978) ist auf Grund rhythmischer Organisation der physiologischen Vorgänge die Reaktionsantwort für jeden experimentellen Eingriff innerhalb einer 24-Stunden-Periode unterschiedlich.
Bei einer Verlagerung der Applikationszeit von 14.00 Uhr auf 11.00 Uhr konnte bei Karpfen in Gruppen und Einzelhaltung keine Verschiebung der Phase innerhalb der 24-Stunden-Periode vermittels Cosinor-Analyse während der Behandlung mit CA nachgewiesen werden. Die Schwimmaktivität im Tagesgang während der Behandlung zeigte zu keiner Stunde signifikante Veränderungen im Vergleich zu jener vor der Behandlung. Jedoch ist während der Behandlung - 4 Stunden nach Applikation - ein Anstieg der Schwimmaktivität bei den Karpfen in Einzelhaltung zu verzeichnen (zu diesem Zeitpunkt wäre der maximale Blutserumspiegel erreicht). Dabei liegt das Aktivitätsniveau zu dieser Stunde nicht höher als vor dem Behandlungszeitraum.
Bei Karpfen in Einzel- und Gruppenhaltung war zu Beginn der Lichtzeit ein schneller Anstieg der Aktivität zu beobachten, einmal durch die Futtermotivation (Appetenzverhalten I) und zum anderen durch den Licht-An-Effekt bedingt. Jedoch bestand bei der Karpfengruppe die Aktivitätsperiode aus zwei - durch eine Ruhepause unterbrochenen -

Schüben. Dieser Aktivitätsrhythmus ist also diphasisch, dem Hauptmaximum folgt ein zweites, geringeres Maximum. Dies entspricht dem "Bigeminus-Typ" (ASCHOFF 1957). SIEGMUND (1981) stellt diesen Typ des Aktivitätsmusters an einzeln gehaltenen Karpfen vor allem in den Monaten März, April und September bei 14.00 Uhr Fütterung fest. Es ist aber anzunehmen, daß in den vorliegenden Versuchen nicht saisonal bedingte Änderung des Aktivitätsmusters wirksam wurden, sondern die Fütterungszeit um 11.00 Uhr den Karpfen in ihrer unter den Laborbedingungen aktiven Periode in der Lichtzeit genügend Zeit läßt, sich erneut auf eine Futtersuche einzustellen. Dieses Verhalten könnte der motivationellen Refraktärperiode (TEMBROCK 1980 b) oder einer Ortswechseltendenz vor Licht-Aus entsprechen, was aber durch diesen Versuchsansatz nicht geklärt werden kann. Außerdem könnte dieser Effekt durch die Anwesenheit von Artgenossen verstärkt werden.

Das zweite Maximum der Aktivität beginnt während der Behandlung mit CA früher anzusteigen und ist auf Kosten des ersten Maximums größer als vor und nach der Behandlung.

LAWROWSKI und GRIN (1982) stellten bei einsömmrigen Karpfen bei ad libitum Futterangebot einen ersten Höhepunkt der Nahrungsaufnahme zwischen 14.00 und 18.00 Uhr fest, ein zweiter trat ab 20.00 Uhr ein. WUNDER (1972) stellt auf Grund von Darminhaltsuntersuchungen beim Karpfen eine Pause der Nahrungsaufnahmeintensität im Verlauf der Mittagsstunden fest.

JÖNSSON (1967) führte Versuche im DD durch und stellte fest, daß die Reaktion von Karpfen auf um 11.00 Uhr gebotenes Futter wesentlich geringer war, als bei einer Futtergabe um 16.00 Uhr. Er nimmt an, daß sich dieser deutliche Unterschied in der Reaktionsstärke daraus erklären läßt, daß die vormittägliche Fütterung in die eigentliche Ruheperiode des Karpfens fällt, während der Karpfen um 16.00 Uhr sich schon in erhöhter Aktivitätslage befindet. Der Fisch war unmittelbar zur 11.00 Uhr Fütterung sehr aktiv, wurde aber schnell wieder ruhig und war dann in seiner eigentlichen Aktivitätsperiode wieder aktiv. Diese Differenzen zwischen den Aktivitätsmengen bezogen auf

die beiden Futtertermine konnte JÖNSSON (1967) für den Januar und den März nachweisen.

In unseren Versuchen waren die Karpfen auf Grund der Fütterung in der Lichtzeit in dieser Periode aktiv. WOLFF, SIEGMUND, VOGEL (1983) weisen nach, daß der Zeitpunkt der Futtergabe zum dominanten Zeitgeber der zirkadianen Schwimmaktivität von Karpfen unter künstlichem Licht-Dunkel-Wechsel im Jahresgang wird. Unter natürlichen Bedingungen ist der Karpfen sowohl nach (JÖNSSON 1967, KAUSCH 1968, KNEIS 1974, STEFFENS 1975) als auch nach Aussagen erfahrener Praktiker ein dunkel- bzw. dämmerungsaktives Tier. Eine Applikation von CA um 11.00 Uhr und vor allem die volle Entfaltung der Wirkung (maximaler Serumspiegel) würde daher in eine unter natürlichen Bedingungen inaktive Phase des Karpfens fallen. Durch chronobiologische Veränderungen der physiologischen Phase kann die Reaktionsantwort einer 11.00 Uhr-Applikation von CA anders ausfallen als bei einer 14.00 Uhr-Applikation. CA könnte um 11.00 Uhr verabreicht auf Grund eines anderen zirkadian bedingten Enzymmusters (SCHEVING 1974) einer anderen Metabolisationsrate folgen und so eine Art Langzeitwirkung bedingen, die sich bei den untersuchten Karpfen in Einzelhaltung und auch bei Forellen (siehe weiter unten), mit einer signifikanten Verringerung der Schwimmaktivität und einer Phasenverschiebung von 1 Stunde 39 Minuten nach der Behandlung im Vergleich zu vor der Behandlung äußert.

Wie stark der Einfluß der physiologischen Tagesrhythmik auf die biologische Wirksamkeit von Substanzen sein kann, sei nur mit einem Beispiel erläutert. Werden 190 mg/kg Phenobarbital Mäusen um 14.00 Uhr appliziert, überleben alle Tiere, die gleiche Dosis um 23.00 Uhr gegeben, führt zu 100prozentiger Letalität (MAYERSBACH 1978). WOLFF und SIEGMUND (1978) wiesen die tageszeitliche Abhängigkeit der Wirkung von Trichloräthylen auf die spontane lokomotorische Aktivität und von Tetrachloräthan auf die Letalität von Mäusen nach. Die Aktivität der mit Trichloräthylen behandelten Mäuse war gegenüber der Kontrolle zu allen Zeitpunkten hochsignifikant verringert. Am empfindlichsten reagierten die Mäuse auf Tetrachloräthan

in der Dunkelzeit. Nach Applikation von Einzeldosen starben, bei stets gleichbleibender Dosierung zu verschiedenen Tageszeiten, in der Dunkelzeit prozentual signifikant mehr Tiere als in der Lichtzeit.
Bei den Forellen ist ebenfalls bei der Applikation von CA um 11.00 Uhr keine Verschiebung der Maximalaktivität festzustellen. Allerdings ist der Aktivitätsanstieg während der Behandlung 4 Stunden nach der Applikation signifikant im Vergleich zu vor der Behandlung (maximaler Serumspiegel ist zu dieser Stunde erreicht!).
Nach der Behandlung ist ähnlich wie bei den Karpfen der 11.00 Uhr-Applikation eine signifikante Verringerung der Schwimmaktivität gegenüber dem Ausgangsniveau nachzuweisen. Auch eine Phasenverschiebung der 24-Stunden-Periode ist fast zeitgleich zu den 11.00 Uhr-Karpfenversuchen nach der Behandlung zu beobachten. Jedoch läuft die Phase bei den Karpfen vor und bei den Forellen zurück.
WUNDER (1972) charakterisiert die Forelle als ein "Helltier", das im klaren Wasser von geringer Tiefe lebt und tagaktiv ist. BACHMANN et al. (1979) analysierten das Aktivitätsmuster der Bachforelle, Salmo trutta, und stellten ein bimodales Muster der Tagesaktivität fest mit Spitzen in der Morgen- und Abenddämmerung.
MÜLLER (1970a) stellte fest, daß die im Hochsommer dämmerungsaktive Bachforelle (Salmo trutta) in den Wintermonaten zur Tagesaktivität übergeht, wobei sich in den Sommermonaten ein Aktivitätsgipfel nach Sonnenaufgang und ein zweiter größerer Gipfel vor Sonnenuntergang (18.00 bis 19.00 Uhr) einstellt. Zur Mittagszeit sind die Forellen in MÜLLERS Untersuchungen inaktiv. Bei Bachsaiblingen (Salvelinus fontinalis) konnte das Aktivitätsmuster bei natürlichem Lichtregime durch den Zeitgeber Fütterung nicht beeinflußt werden. Die Bachsaiblinge fraßen einen in der Ruhezeit gebotenen Beutefisch erst nach Anbruch ihrer Aktivitätszeit.
MÜLLER (1970b) beobachtete bei Aktivitätsmessungen an Bachforellen in den Frühjahrs- und Sommermonaten einen Aktivitätsanstieg zur Morgen- und Abenddämmerung parallel zu dem der Insektenlarven.

Die Regenbogenforellen in den Versuchen in Zippelsförde der Monate Mai bis September 1982/83 waren tagaktiv.

BELKOVSKIJ (1982) untersuchte die physiologischen Parameter des $O_2$-Verbrauchs und die Ausscheidung von Ammoniumstickstoff an der Regenbogenforelle. Er fand einen deutlich ausgeprägten Atmungsrhythmus, wobei die maximale Intensität des $O_2$-Verbrauchs zwischen 15.00 und 17.00 Uhr und die minimale zwischen 3.00 und 5.00 Uhr auftrat. Maximale und minimale Stickstoffausscheidungen fielen mit den Perioden des maximalen und minimalen $O_2$-Verbrauchs zusammen. Eine Fütterung erfolgte achtmal täglich von 6.00 bis 20.00 Uhr und hatte ebenso wie Wassertemperatur, Beleuchtung und $O_2$-Gehalt des Wassers in diesen Versuchen keinen Einfluß auf die Herausbildung des Tagesrhythmus. Es zeigte sich also, daß durch relativ geringe Änderung der Umwelteinflüsse keine Wirkung auf das Aktivitätsmuster zu verzeichnen war. Dies erlaubt freilich noch nicht, von der Rhythmik der motorischen Aktivität auf die zirkadianen Enzymmuster zu schließen.

Eine CA-Applikation um 14.00 Uhr bedingt sowohl bei Karpfen als auch bei Forellen eine Veränderung im Zeitmuster während der Behandlung, im Gegensatz zu einer 11.00 Uhr-Applikation. Ursache dafür könnte sein, daß der CA-Einfluß auf einen anderen zeitlichen biochemischen Zustand trifft, der eng mit der Aktivitätsphase verbunden ist.

Bei einer 11.00 Uhr-Applikation ist nach der Behandlung bei Karpfen und Forellen eine Phasenverschiebung nachzuweisen, die zwar fast zeitgleich, aber gegenläufig ist, sie könnte in den endogenen Aktivitätsmustern begründet sein. Eine 11.00 Uhr-Applikation belastet die Fische möglicherweise mehr und verringert die Schwimmaktivität langzeitig (14 Tage nach der Behandlung).

SPANGENBERG und SCHRECKENBACH (im Druck) stellten bei Karpfen 3 bis 4 Stunden nach der Fütterung bei 23°C Wassertemperatur die höchste Ausscheidungsrate von Ammonium fest, wobei die Intensität der Ammoniumausscheidung von der Futterqualität abhängt. Es könnte ein summierender Effekt bei einer 14.00 Uhr-Fütterung vorliegen,

so daß nicht nur die höchste Ausscheidungsrate von $NH_4$ mit dem maximalen Blutserumspiegel von CA zusammenfällt, sondern auch noch eine natürliche Aktivitätszeit der Fische vorliegt mit erhöhter Stoffwechseltätigkeit und Herzrate, wie sie für die Forelle zu dieser Zeit beschrieben ist (siehe S. 73).

Endogene Rhythmen physiologischer Vorgänge sind zentral gesteuert. Der zentrale Schrittmacher für eine Reihe physiologischer Prozesse, die eine zirkadiane Rhythmik aufweisen, ist für Säugetiere mit dem Nucleus suprachiasmaticus in Beziehung gesetzt worden (MOORE 1982). Bei Vögeln und Fischen ist das Pinealorgan ein zentraler Schrittmacher, das neuronale Verbindungen zum Hypothalamus aufweist. Von dort wird es mit adrenergen Nerven versorgt (MATTY, in THORPE 1978). Die Zirbeldrüse erfüllt bei Säugern die gleiche Funktion wie das Pinealorgan bei Vögeln und Fischen - die Produktion (Synthese und Freisetzung) von Melatonin. Die Aktivität dieses Organs wird aber bei den Säugern vom Nucleus suprachiasmaticus gesteuert im Gegensatz zu Vögeln und Fischen, wo das Pinealorgan selbst Schrittmacher ist und direkt auf den Zeitgeber Licht reagiert (SIEGMUND und WOLFF 1973 b, KAVALIERS 1979, TAKHASHI 1982, MOORE 1982). Die zirkadian schwankende Melatonin-Synthese ändert sich hier von der Licht- zur Dunkelphase um einen Faktor $>10$ (TAKAHASHI 1982, MATTHEWS 1981).

Das Hormon Melatonin, das mittels des pinealständigen Enzyms N-Acetyltransferase aus Serotonin gebildet wird, steuert nicht nur die Pigmentierung der Haut, sondern auch die lokomotorische Aktivität. Ein erhöhter Melatoninspiegel dämpft u. a. den Erregungszustand der Großhirnrinde (NICHELMANN 1982), vermindert bei Teleostea die Schwimmaktivität (MATTY, in THORPE 1978), jedoch kann ein Anstieg des Serotonins (eine Vorstufe des Melatonins) im ZNS die Schwimmaktivität steigern.

Die Zirbeldrüse ist bei Säugern mit ß-adrenergen Rezeptoren ausgerüstet und eine Stimulation dieser, etwa durch Noradrenalin, führt zur Steigerung der N-Acetyltransferase-Aktivität und somit zur vermehrten Melatonin-Synthese und -Freisetzung. Bei Vögeln und wahrschein-

lich auch bei Fischen ist dieser Vorgang jedoch genau umgekehrt, so bewirkt eine Inkubation mit adrenergen Agonisten eine Hemmung des Enzyms (TAKAHASHI 1982). Es wird weniger Melatonin synthetisiert, und es kann zu einem Anstieg von Serotonin kommen.
CA als ein Derivat der Phenylalkylamingruppe besitzt strukturelle Verwandtschaft zu den aktiven adrenergen Agonisten. Eine Anzahl von Verbindungen dieser Gruppe, die eine erhebliche adrenerge Wirkung besitzen, ist bekannt (MARKWARDT 1983). Dabei ist zu bemerken, daß die meisten Wirkungen und Nebenwirkungen im Bereich der therapeutischen Dosen beschrieben werden (z. B. HAUSCHILD 1973, KNOLLE 1973, SZORADY 1973, TROLLDENIER 1977), aber in den vorliegenden Fischexperimenten jedoch die Serumspiegel um etwa das 6 bis 8fache höher liegen. In Voruntersuchungen wurden Blutspiegel von $K_1$ nach Applikation von 50 mg/kg CA mit der HPLC-Methode gemessen. In Übereinstimmung mit KULOW und SPANGENBERG (1974) wurden damit Serumspiegel von 60 bis 80 ug/ml erzielt (bei 18°C Wassertemperatur).

Auf Grund struktureller Ähnlichkeiten von CA zu den aktiven adrenergen Agonisten (siehe weiter oben) und der relativ hohen CA-Konzentration im Fischorganismus könnte CA möglicherweise direkt oder indirekt blockierend auf die ß-Rezeptoren des Pinealorgans wirken. Das hätte zur Folge, daß die N-Acetyltransferase-Produktion gehemmt wird, weniger Melatonin synthetisiert wird, und es weiterhin zu einem Anstau von Serotonin kommt. Ein verminderter Melatoninspiegel und ein erhöhter Serotoninspiegel könnten damit die verstärkte Schwimmaktivität 4 Stunden nach einer 14.00 Uhr-Applikation erklären. Das dieser Effekt bei einer 11.00 Uhr-Applikation von CA nicht eintritt, liegt dann gegebenenfalls in der unterschiedlichen Ansprechbarkeit der Rezeptoren im Tagesgang begründet.
Es ist bekannt, daß im ZNS die Anzahl der Rezeptoren für viele Agonisten starken zirkadianen Schwankungen unterworfen ist. Sie sind beschrieben für adrenerge $\alpha$- und ß-Rezeptoren, für muscarine cholinerge Rezeptoren, für Dopamin- und Opiatrezeptoren (NABER et al. 1982).

Die Schwankungsbreite für die Empfindlichkeit der ß-Rezeptoren im Gehirn und Pinealorgan kann mehr als 50% betragen (WIRZ-JUSTICE et al.

1980), und diese Differenzen können innerhalb von 4 Stunden auftreten. Es ist also denkbar, daß CA bei einer Applikation um 11.00 Uhr auf wesentlich weniger Rezeptoren trifft, als wenn es 3 Stunden später, also um 14.00 Uhr verabfolgt wird.

Die Ursachen der CA-Wirkung können durch unsere Untersuchungen nicht erklärt werden. Ob CA die zirkadiane Periodenlänge ebenfalls beeinflußt, wäre an Hand von Untersuchungen unter konstanten Lichtbedingungen (z. B. Dauerdunkel) zu prüfen.

Wo auch immer der Angriffspunkt des Chloramphenicols liegen mag, die Wirkung auf das lokomotorische Verhalten ist von der Tageszeit, zu der CA appliziert wird, abhängig, Der Grund dafür liegt in der tagesrhythmischen Veränderung von Körperfunktionen.

Für den Menschen sind tagesrhythmische Veränderungen bei bisher allen untersuchten Funktionen nachgewiesen worden. Sie betreffen Körpertemperatur, Blutkreislauf, Atmung, Leberstoffwechsel, Magen- und Darmtätigkeit, Nierenfunktion, nervöse Leistungen, Blutzellenzusammensetzung und Hormone. Durch diese tagesrhythmischen Zustandsänderungen reagieren die Organismen auch unterschiedlich auf Pharmaka (RENSING 1973).

Bei Fischen sind tages- und jahresbedingte sowie von der Ontogenese bedingte Schwankungen der Aktivitätsmuster bekannt (MÜLLER 1969, SEIFT 1964, MÜLLER und JOHNSON 1978, SIEGMUND 1981). Die tagesrhythmischen Körperfunktionen stehen im engen Zusammenhang mit wechselnden Aktivitäts- und Ruhepausen.

SPANNHOF et al. (1983) konnten einen Tagesgang der freien Fettsäuren im Blut mit Maxima gegen 3.00 Uhr und Minima gegen 9.00 Uhr bei der Regenbogenforelle (Salmo gairdneri) feststellen, der unabhängig von der Fütterung ist. Eine Verschiebung der Photoperiode um 12 Stunden führt nach dreiwöchiger Anpassungszeit zu einer Verschiebung der Extremwerte in die Hellphase und zu einer Verlängerung der Schwingung.

Eine signifikante Erhöhung der Herzrate nach einmaliger peroraler Applikation von CA wurde in vorliegenden Untersuchungen für Karpfen gefunden. Das Ansteigen der Herzrate der Kontrollfische im Versuch, in dem CA über das Futter verabreicht wird, ist durch den Fütterungs-

effekt selbst zu erklären. SIEGMUND (1983) kann nach Futterangebot eine Steigerung der mittleren Herzrate um 37% bei gleichzeitiger Verringerung der Schwimmaktivität nachweisen. Die tachykarde Wirkung von CA in unseren Versuchen überrascht, da in der vorliegenden Literatur keine Hinweise etwaiger Herz-Kreislaufwirkungen beschrieben werden (HAUSCHILD 1973, KEISER 1973, KNOLLE 1973, SZORADY 1973, BENTZ und RICHTER 1977, GOODMANN und GILLMANN 1975, FELLER und HÜLLER 1978). Lediglich bei Säuglingen und Neugeborenen kann es infolge von Überdosierungen bei gleichzeitiger mangelnder Metabolisierungskapazität zum Gray-Syndrom kommen, bei dem durch die Kumulation des CA gastrointestinale Reaktionen und ein tödlicher Kreislaufkollaps verursacht werden (MARKWARDT 1983, TAUCHNITZ 1975. CA wirkt bakteriostatisch durch die Hemmung der Proteinsynthese. In höheren Konzentrationen hemmt es auch die Proteinsynthese im Wirtsorganismus. CA scheint die Synthese der Proteine der Mitochondrienmembran spezifisch zu stören. Damit im Zusammenhang steht vielleicht die Hemmung der zellulären Atmung, die ihrerseits zurückzuführen ist auf eine Aktivitätseinschränkung von Atmungsfermenten wie Cytochrom b, Cytochrom a und $a_3$. Unmittelbare Knochenmarkschäden, aplastische Anämie und immunsupressive Wirkung sind ebenfalls auf die mitochondriale Proteinsynthesestörung zurückzuführen (KREISER 1973, KNOLLE 1973). CA diffundiert in extra- und intrazelluläre Räume, durchdringt die Blut-Hirn-Schranke (SCHÄPERCLAUS 1979).

Nach oder bei gleichzeitiger CA-Verabreichung kann sich eine Barbituratnarkose bei Hunden, Katzen, Affen und Labortieren in ihrer Dauer um das 2-, 6- und 35fache verlängern (BENTZ 1982).

Auf Grund der hohen CA-Konzentrationen im Fischorganismus nach der strukturellen Ähnlichkeit von CA mit den Katecholaminen (siehe weiter oben) könnte man eine mögliche Stimulierung der sympatischen Rezeptoren annehmen, die zu einer Erhöhung der Herzrate führen.

Die Innervation des Fischherzens ist nicht völlig aufgeklärt. RANDALL (1966) gibt eine cholinerge Innervation des Herzens bei Schleie (Tinca tinca) und Goldfisch (Carassius auratus) an. Während GANNON und BURNSTOCK (1969) am Forellenherz adrenerge Fasern nachweisen

konnten, fanden CHAN und CHOW (1976) bei Anguilla japonica, daß Katecholamine keine positiv-chronotrope Wirkung besitzen. CYBULSKA et al. (1978a) können für den Aal (Anguilla anguilla) adrenerge Rezeptoren am Herzen nachweisen. Niedrige Dosen von adrenergen Agonisten verursachen eine negative Chrono- und Dormotropie, während hohe Dosen eine positiv-chronotrope Wirkung hatten.
PRIEDE (1978) beschreibt für das Fischherz das Vorhandensein von adrenergen ß-Rezeptoren, denn es spricht sehr wohl auf Adrenalin und deren Agonisten an.
STEVENS und RANDALL (1967) fanden, daß durch Adrenalingaben die Herzfrequenz gesteigert wird. Es wird angenommen, daß dieser Effekt durch die $\alpha$-Rezeptoren in den Blutgefäßen vermittelt wird, die eine Vasodilatation der Kiemen und eine Vasokonstriktion des Körperkreislaufs bedingen. Adrenerge Rezeptoren wurden ebenfalls experimentell von PETTERSON et al. (1980) und WAHLQUIST (1980) für den Dorsch (Gadus morhua) nachgewiesen.
FARRELL (1981) gibt ebenfalls für Ophiodon elongatus sympathische Rezeptoren an. Eine physiologische Steuerung des Herzens kann durch die Sauerstoffkonzentration des Wassers hervorgerufen werden. 1962 berichten SHELTON et al., daß eine niedrige Sauerstoffkonzentration des Wassers im Kiemenraum zur Bradykardie beim Schlei (Tinca tinca) führt. HOLETON und RANDALL (1967) untersuchten diese Zusammenhänge bei der Regenbogenforelle. Unter hypoxischen Bedingungen kommt es zu einem starken Rückgang der Herzrate. Steigt die Sauerstoffkonzentration wieder auf Normalwerte, so erhöht sich die Herzrate wieder, und nach 90 Minuten werden die Initialwerte erreicht.

RANDELL (1966) berichtet, daß unter hypoxischen Bedingungen die Aktivität des Nervus vagus ansteigt und Bradykardie zur Folge hat. WEINTRAUB und MATTHEW (1975) konnten ebenfalls durch hypoxische Bedingungen Bradykardie bei der Regenbogenforelle nachweisen, wobei eine enge Beziehung zum normalen Aktivitätszustand der Fische bestand. Inaktive Fische hatten eine niedrigere Herzfrequenz, die unter hypoxischen Bedingungen nicht so stark absank, wie die der aktiven Fische.

Auf chemische, optische und mechanische Umweltreize reagieren Fische

allgemein mit einer Deceleration (RANDELL 1970, MALJAKINA 1971, FRANCIS 1974, WANG et al. 1977, CYBULSKA et al. 1978b, SIEGMUND 1981, NELSON 1982).
JAUCH (1981) zeigt, daß die negativ chronotrope Wirkung von Lebaycid, einem Organophosphat, das durch Hemmung der Cholinesterasen im Gewebe zu einer Anreicherung des Acetylcholins an den Endigungen des parasympathischen Systems führt, nur nachgewiesen werden kann, wenn die Fische (Buntbarsche, Tilapia leucosticta) narkotisiert werden. Bei nicht narkotisierten Fischen nimmt die Herzfrequenz unmittelbar nach der Giftzugabe drastisch ab und wird als reflektorische Reaktion auf das Gift diskutiert, danach (6 bis 8 min) werden die Fische in steigendem Maße unruhiger und entwickeln eine hohe motorische Aktivität. Dabei steigt die Herzfrequenz wieder an und übertrifft nach 80 % Überlebenszeit im Maximum von 244 % ihren Kontrollwert.

Neben dem Einfluß von Wassertemperatur, Stoffwechsellage und $O_2$-Druck (RANDELL 1966, SIEGMUND 1976, MOFFITT et al. 1982) kann die Herzrate einen Tages- und Jahresgang aufweisen (KNEIS und SIEGMUND 1976, PRIEDE 1978, SIEGMUND und HEUER 1980, SIEGMUND 1981).
WEGRZYNOWICZ et al. (1975) geben für die Bachforelle (Salmo trutta) die höchste Herz- und Atemfrequenz für 18.00 Uhr, bei Sonnenuntergang für den Herbst an. NANBA et al. (1978) fanden eine Abhängigkeit der EKG-Intervalle von der Körpermasse von Karpfen (Cyprinus carpio).
Nach PEYRAUD-WAITZENEGGER (1980) sind ß-adrenerge Reaktionen im Winter deutlich schwächer als im Sommer. Siginifikant stärkere $\alpha$-adrenerge Reaktionen bei Regenbogenforellen traten im Gefäßsystem von Februar bis Mai, verglichen mit dem Zeitraum Juni - Dezember auf (WOOD 1976). MOEN et al. (1981) wiesen eine Temperaturabhängigkeit der $\alpha$-Rezeptoren in den Gefäßen nach. Zwischen 5 bis 8 °C ist die Regulationsfähigkeit von Adrenalin auf die periphere Zirkulation am stärksten.
Die Wirkung von CA hinsichtlich einer Erhöhung der Herzrate bleibt unklar. Eine CA-Wirkung auf biochemischem Wege wäre nicht ausge-

schlossen, z. B. über die Hemmung der zellulären Atmung, jedoch gibt die relativ kurzzeitige Ansprechbarkeit des Fischherzens (im Minutenbereich) Anlaß zur Annahme einer CA-Wirkung auf peripherem Gebiet.
Die Herzrate ging erst mit abfallendem CA-Serumspiegel zurück. Ob CA eine direkte Wirkung auf das Herz hat, sollten Versuche am freigelegten Fischherzen in vitro erbringen.

Die zahlreichen Angaben zur erfolgreichen Bekämpfung von Fischkrankheiten mit Antibiotika (z. B. SCHÄPERCLAUS 1979) zeigen, daß diese Pharmaka einen festen Bestandteil bei der Therapie von Fischkrankheiten in der Intensivproduktion haben. Trotz umfangreicher Untersuchungen über die Anwendung von Antimikrobiotika in der Fischproduktion (WUNDER 1956, DOROCHOW 1955, MÜLLER 1956, MERLA und ZELDER 1961, SZAKOLCZAI 1965, KULOW und SPANGENBERG 1969, KULOW und SPANGENBERG 1974, GLENDE et al. 1974) liegen nur wenige Informationen über die Wirkung wichtiger Präparate auf den Fischorganismus vor (RIJKERS et al. 1981). Auf Grund der vielfach beschriebenen Nebenwirkungen von CA (siehe weiter oben) sollte die Anwendung von Antibiotika generell und in der Fischproduktion auf wirklich nötige, bakteriologisch gesicherte Fälle beschränkt bleiben. Nicht zuletzt auch deshalb, weil die Möglichkeit der Rückstandsbildung und dann der Förderung von resistenten Stämmen human- und tierpathogener Erreger gegeben ist (REICHENBACH-KLINKE 1976, BEUTIN 1981).
VLADIMIROV (1971) kann CA nach intraperitonealer Verabreichung eines Depotpräparates in einer Dosis von 200 mg pro kg Fischmasse bei 0 bis 2 °C noch nach 175 Tagen im Blut von Karpfen (Cyprinus carpio) nachweisen.
Die Ergebnisse der vorliegenden Versuche sollten Anlaß geben zur Berücksichtigung der Tageszeit bei der Verabreichung von CA. Eine CA-Gabe mit dem letzten Futter wäre zu empfehlen. Einmal würde so verhindert, daß eine erneute Fütterung in die Zeit der maximalen Wirkung von CA fällt, die ja von den Fischen schon mit einer erhöhten Lokomotion beantwortet wird und so zusätzlich belastend wirkt. Zum

anderen zeigte sich, daß eine Verabreichung von CA um 11.00 Uhr zu einer Langzeitwirkung führt.

Schwimmaktivität und Herzrate haben sich in den vorliegenden Untersuchungen als gute Indikatoren erwiesen, den Verhaltensstatus nach einer Chloramphenicolgabe widerzuspiegeln.
Auf Grund der relativ rückwirkungsarmen Abgreifbarkeit und schnellen Ansprechbarkeit, könnten diese Parameter je nach Fischart und den gegebenen ökologischen Faktoren unter Berücksichtigung tages- und jahreszeitlicher Veränderungen bioindikative Bedeutung erlangen (vgl. auch HERING 1976, SIEGMUND 1981, ZABKA 1983). Beobachtung und Interpretation von Verhaltensweisen lassen somit auch ein frühzeitiges Erkennen gefährlicher Belastungen zu, denn Verschlechterungen von Umweltbedingungen (z. B. Abwässer, $O_2$-Mangel, pH-Wertveränderungen, Krankheiten) machen besonders in der intensiven Fischproduktion ein schnelles und gezieltes Handeln notwendig. Obwohl eine Beurteilung von physiologischen Parametern wie z. B. Blutbild, Blutzuckergehalt, Organveränderung auch weiterhin für die Prophylaxe und Therapie notwendig sind, sprechen diese Parameter oft zu spät an. Insbesondere sind histopathologische Kriterien bereits Zeichen einer Spätschädigung, und der Fischwirt ist vor vollendete Tatsachen gestellt.
Dem entgegenzuwirken müssen früheste Störungsschwellen gefunden werden, also diejenigen Reaktionen, bei denen erste Beeinträchtigungen des Organismus zu erkennen sind. Sie gilt es als möglichst zuverlässig zu erfassen (HAIDER 1980). Schwimmaktivität und Herzfrequenz sind bei Fischen nach allen bisherigen und den hier vorgelegten Befunden gut geeignet.

## 5. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit hatte zum Ziel, die kaum erhobene Fragestellung, ob die Wirkung von Chemotherapeutika im Verhalten ablesbar ist, zu klären, um so eine Aussage über eventuelle physiologische Schädigungen treffen zu können.

Biologische Rhythmen können mittels moderner Verfahren der Datenerhebung und Analyse zur Erfassung physiologischer und limnologischer Wirkungsgefüge genutzt werden, um Umweltbelastungen und Krankheiten der Fische frühzeitig zu erfassen (passive Bioindikation, TEMBROCK 1980).

Unsere Untersuchungen konzentrierten sich auf den Einfluß von Chloramphenicol (CA) auf Schwimmaktivität und die Herzrate. Die Schwimmaktivität wurde vor, während und nach einer Behandlungsphase mit CA erfaßt. Die Untersuchungen erstreckten sich auf einzeln gehälterte Karpfen und Karpfengruppen unter standardisierten Laborbedingungen sowie Forellengruppen, die weitestgehend natürlichen Licht- und Witterungsverhältnissen ausgesetzt waren. Mit Hilfe der Cosinoranalyse konnte die Phasenbeziehung der Tagesrhythmik der Schwimmaktivität in den Versuchen dargestellt werden.

Die Applikation des CA erfolgte peroral in therapeutischen Konzentrationen mit Schlundsonde und über das Futter und wurde in der Wirkung mit Kontrolltieren verglichen.

Zwangsweise verabreichtes CA reduzierte im Behandlungszeitraum die Schwimmaktivität. Nach der Applikation (14 Tage) erreichten nur die Kontrolltiere das Ausgangsniveau ihrer Schwimmaktivität, während die behandelten Fische signifikant unter dem Aktivitätsniveau bleiben.

CA über das Futter verabreicht, führt weniger zu einer Verringerung der Schwimmaktivität im Behandlungszeitraum, als vielmehr zu einer Veränderung im Zeitmuster.

Bei einer 14.00 Uhr-Applikation von CA zeigt sich, daß sich die maximale Aktivität während der Behandlung um 4 Stunden verschiebt. Eine 11.00 Uhr-Applikation dagegen, zeigt während der Behandlung keine Verschiebung im Zeitmuster und der Phase, jedoch ist nach der Behand-

lung eine Phasenverschiebung bei gleichzeitiger signifikanter Verringerung der Schwimmaktivität nachzuweisen. Ursache dieser unterschiedlichen Wirkung von CA könnte in der tagesrhythmischen Organisation von Körperfunktionen begründet liegen, die eng mit Aktivitäts- und Ruhephasen der Organismen verbunden sind. Diese Ergebnisse geben Anlaß, eine CA-Verabreichung in der Praxis, mit der letzten Fütterung zu empfehlen.

Der Einfluß von Chloramphenicol auf die Herzrate wurde einmal nach einer Applikation mit der Schlundsonde und zum anderen über das Futter im Vergleich zur Kontrolle untersucht. In beiden Fällen zeigte sich eine signifikante Erhöhung der Herzrate gegenüber den Kontrollen.

Schwimmaktivität und Herzfrequenz haben sich als gute Indikatoren erwiesen, um Organismus-Umwelt-Beziehungen deutlich zu machen und könnten an Hand ihrer guten Meßbarkeit eine Bedeutung einer frühen Störungsschwelle bei gefährlichen Belastungen haben.

## 6. Literaturverzeichnis


ASCHOFF, J.: Aktivitätsmuster der Tagesperiodik. - In: Naturwissenschaften. - Berlin (W.), 44 (1957). - S. 361-367

BACHMANN, R.: Diel locomotor patterns of wild brown trout (Salmo trutta L.) in an electronic shuttlebox / Bachmann, R.; Reynolds, W.; Casterlin, M. - In: Hydrobiologia. - Den Haag, 66 (1979) 1: - S. 45-47

BELKOWSKIJ, N.: Physiologische Aktivitäten der Forellen. - In: Rybovodstvo i Rybolovstovo. - Moskva, 2 (1982). - S. 8-9 - (russ.)

BENZ, H.: Veterinärmedizinische Pharmakologie. - Jena, 1982

BENTZ, H.: Grundlagen der Pharmakognosie / Bentz, H.; Richter, H. - Jena, 1977

BEUTIN, L.: Antibiotika und chemische Wirkstoffe in der Tierernährung. - In: Biologie in unserer Zeit. - 11 (1981). - S. 129-134

BRUCE, V. G.: An effect of heavy water on the phase and period of the arcadian rhythm in Euglena / Bruce, V. G.; Pittendrigh, C. S. - In: J. Cell. Comp. Physiol. - 56 (1960) 25. - S. 31

BÜHNEMANN, F.: Die rhythmische Sporenbildung von Oedogonium cardiacum Wittr. - In: Biol. Zbl. - 74 (1955). - S. 1-53

BÜNNING, E.: Versuche zur Beeinflussung der endogenen Tagesrhythmik durch chemische Faktoren. - In: Z. für Botanik. - 44 (1956). - S. 515-529

BÜNNING, E.: Zur Wirkung von schwerem Wasser auf die endogene Tagesrhythmik / Bünning, E.; Baltes. - In: Naturwissenschaften. - Berlin (W.), 50 (1953). - S. 622

CHAN, D. K. O.: The effects of acetylcholin, biogenic amines and other vasoactive agents on the cardiovascular functions of the eel Anguilla japonica / Chan, D. K. O.; Chow, P. H. - In: J. exp. Zool. - 196 (1976). - S. 13-26

CLAUSS, G.: Grundlagen der Statistik / Clauss, G.; Ebner, H. - Berlin: Volk und Wissen, 1974

CYBULSKA, N.: Die Wirkung intravenöser Injektionen exogener Katecholamine auf das Elektrokardiogramm von Anguilla anguilla / Cybulska, N.; Muzykiewicz, J.; Wegrzynowicz, R. - In: Akad. rolniczy-techn., Techn. Zywnosci. - Szcecin, 70 (1978). - S. 17-25 (poln.)

CYBULSKA, N.: Wirkung physikalischer Stimuli auf Änderungen des Elektrokardiogramms von Anguilla anguilla / Cybulska, N.; Muzykiewicz, J.; Wegrzynowicz, R. - In: Akad. rolniczy-techn., Techn. Zywnosci. - Szcecin, 70 (1978). - S. 17-25 (poln.)

DOROCHOW, S. M.: Über die Anwendung von Antibiotika in der Teichwirtschaft. - In: Rybnoe chozjajstvo. - 4 (1955). - S. 50

DUONG, N. T.: Auswirkungen innerer und äußerer Faktoren auf den Glukose- und Laktatgehalt des Blutes von Karpfen (Cyprinus carpio L. und Salmo gairdneri RICH.): Diss. A. - Berlin: HU, 1974

ENRIGHT, J. T.: The internal clock of drunken isopods. - In: Z. Vergl. Physiol. - 75 (1971). - S. 332-346

ENRIGHT, J. T.: Heavy water slows biological timing processes. - In: Z. Vergl. Physiol. - 72 (1971). - S. 1-16

FARELL, A. P.: Cardiovascular changes in the lingcod (Ophiodon elongatus) following adrenergic and cholinergic drug infusions. - In: J. Exp. Biol. - 91 (1981). - S. 293-305

FRANCIS, A.: A heart rate bioassay for crowding factors in goldfish. - In: Progr. Fishcult. - 36 (1974). - S. 196-200

GANNON, B. J.: Exitatory adrenergic innervation of the fish heart / Gannon, B. J.; Burnstock, G. - In: Comp. Biochem. Physiol. - 29 (1969). - S. 765-773

GLENDE, W.: Untersuchungen über die Antibiotikaverweildauer und den Antibiotikagehalt in Regenbogenforellen (Salmo gairdneri) nach peroraler Verabreichung verschiedener Chlortetracyclindosen / Glende, W.; Wenzel, S.; Roth, L. - In: Arch. Lebensmittelhyg. - Hannover, - 25 (1974). - S. 124-129

GOODMANN, L. S.: The pharmacological Basis of Therapeutics / Goodmann, L. S.; Gilman, A. - In: New York: Macmillan, 1975

HAIDER, G.: Der Fisch als Indikator für die Schwermetallbelastung der Gewässer. - In: Fisch und Umwelt. - Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1980. - Nr. 8

HAUSCHILD, F.: Pharmakologie und Grundlagen der Toxikologie. - Leipzig: Georg Thieme, 1973

HALBERG, F.: Circadian system phase - an aspect of temporal morphology; procedures and illustrative examples / Halberg, F.; Tong, Y. L.; Johnson, E. A. - In: The cellular aspect of biorhythms. - Berlin-Heidelberg-New York: Springer, 1967. - S. 20-48

HERING, G.: Verhaltensuntersuchungen für die industriemäßige Fischproduktion unter besonderer Berücksichtigung der lokomotorischen Aktivität von jungen Aalen (Anguilla anguilla): Diss. A. - Berlin: Humboldt-Univ., 1976

HOLETON, G. F.: Changes in blood pressure in the rainbow trout during hypoxia / Holeton, G. F.; Randell, D. J. - In: J. Exp. Biol. - 46 (1967). - S. 297-305

JAUCH, D.: Physiologische Auswirkungen des Insektizides Lebaycid (Organophosphat) auf Atmung und Kreislauf von Buntbarschen der Art Tilapia leucosticta (TREWAVAS 1933). - In: Angew. Zool. - 68 (1981). - S. 39-66

JÖHNSSON, N.: Experimentelle Untersuchungen über die Futtersuche und die Aktivität einsömmriger Karpfen. - In: Z. Fischerei N. F. - 15 (1967). - S. 61-127

JOHNSSON, A.: Wirkung von Lithiumkarbonat auf die zirkadiane Periodik des Menschen / Johnsson, A. u. a. - In: Pharmokopsychiat. - 12 (1979). - S. 423-425

KARPOVICH, T. A.: Atem- und Herzfrequenz von Thymallus arcticus baicalensis bei Veränderung der Umweltfaktoren / Karpovich, T. A.; Kolupaev, B. I. - In: Vopr. Ichtiol. - Moskva. - 21 (1981). - S. 520-524 (russ.)

KAUSCH, : Der Einfluß der Spontanaktivität auf die Stoffwechselrate junger Karpfen (Cyprinus carpio L.) in Hunger und bei Fütterung. - In: Arch. Hydrobiol. - Suppl. 33 (1968). - S. 263-330

KAVALIERS, M.: The Pinealorgan and circadian organization of teleost fish. - In: Rev. Can. Biol. - 38 (1979). - S. 281-292

KEISER, G.: Bericht über ein internationales Chloramphenicol - Thiamphenicol - Symposium in Sils Maria Gr., Schweiz. - In: Praxis. - 62 (1973). - S. 605

KELLER, S.: Über die Wirkung chemischer Faktoren auf die tagesperiodischen Blattbewegungen von Phaseolus multiflorus. - In: Z. Bot. - 48 (1960). - S. 32-57

KISCH, B.: Electrocardiographic investigation of the hearts of fish. - In: Exp. Med. Surg. - 6 (1948). - S. 31-35

KNEIS, P.: Untersuchungen zum Tagesverlauf von Herzfrequenz und lokomotorischer Aktivität unter Einfluß exterorezeptiver Reize an Cyprinus carpio L.: Dipl.-Arb. - HU Berlin: Ber. Verhaltenswiss., Sektion Biol., 1974

KNEIS, P.: Heart rate and locomotor activity in fish: Correlation and circadian and circannual Differences in Cyprinus carpio L. / Kneis, P. u. Siegmund, R. - In: Experientia 32 (1976). - S. 474-475

KNOLLE, P.: Chloramphenicol: Zusammenhänge zwischen dem toxischen und dem therapeutischen Wirkungsmechanismus. - In: Deutsche Apotheker-Zeitung. - 2 (1973)

KOZLOWSKI, J.: Blut- und Gewebespiegel von Chloramphenicol beim Karpfen bei der Prophylaxe der IBW. - In: Bull. Vet. Inst. Pulawy. - 8 (1964). - S. 188-195

KREUTZMANN, H.-L.: The effects of Chloramphenicol and Oxytetra cyclin on Haematopoiesis in the European eel (Anguilla anguilla). - In: Aquaculture. - 10 (1977). - S. 323-334

KRIPKE, D. F.: The effect of lithium carbonate on the circadian rhythm of sleep in normal human subjects / Kripke, D. F. u. a. - In: Bio. Psychiat. - 14 (1979). - S. 545-547

KÜNAST, C.: Die pharmakologische Beeinflußbarkeit des tagesrhythmischen Aktivitätsverhaltens des Flußkrebses Astacus leptodactylus / Künast, C. u. Renner, M. - In: Z. Angew. Zool. - 68 (1981). - S. 95-108

KULOW, H.: Eigenschaften und Bedeutung der Nitrofurane für die Prophylaxe und Therapie von Fischkrankheiten / Kulow, H. u. Spangenberg, R. - In: Dt. Fischerei-Ztg. - 16 (1969). - S. 365-371

KULOW, H.: Serumspiegel von Antibiotica und Sulfonamiden beim Karpfen (Cyprinus carpio) nach einmaliger peroraler Applikation unter Warmwasserbedingungen / Kulow, H. u. Spangenberg, R. - In: Z. Binnenfischerei DDR. - 21 (1974). - S. 161-166

LAWROWSKI, W.: Nahrungsaufnahmerhythmus von $K_1$ / Lawrowski, W. u. Crin, A. - In: Rybovodstvo i rybolovstvo. - 2 (1982). - S. 9-10 (russ.)

MALJAKINA, G. A.: Das Studium des Geruchs der Fische mit Hilfe der Elektrokardiographie / Maljakina, G. A.; Marusov, E. A. - In: Vopr. Ichtiol. - Moskva. - 11 (1971). - S. 1088-1097

MARKWARDT, F.: Allgemeine und spezielle Pharmakologie. - Berlin: Verl. Volk und Gesundheit, 1983

MATTHEWS, C. D.: Lack of diurnal variation in sensitivity of peripheral melatonin receptors in fish / Matthews, C. D.; Frohm, M. J.; Seamark, R. F. - In: IRCS Medical Science. - 9 (1981). - S. 831

MATTY, A. J.: Pineal and some Pituitary hormone rhythms in fish. - In: Rhythmic activity of fishes. - London; New York; San Francisco, 1978

MAYERSBACH, H. v.: Die Zeitstruktur des Organismus: Auswirkungen auf zelluläre Leistungsfähigkeit und Medikamentenempfindlichkeit. - In: Arzneim.-Forsch. - 28 (1978). - S. 1809-1872

MELLERRUP, E. T.: Lithium effect on temperatur rhythm in psychiatric patients / Mellerrup, E. T. u. a. - In: Acta pharmacol. et toxicol. - 42 (1978). - S. 125-129

MERLA, G.: Zur Kenntnis des Einflusses einer Chloronitrininjektion auf das Wachstum von Karpfen ($K_{2-3}$) im Jahre 1960 / Merla, G. u. Zelder, H. - In: Z. Fischerei N. F. - 10 (1961). - S. 507-513

MESKE, C.: Aquakultur. - Stuttgart, 1983

MOEN, K. A.: The effect of adrenalin on peripheral vascular resistance at different temperatures in a hind-part preparation of rainbow trout (Salmo gairdneri R.) / Moen, K. A. u. a. - In: Comp. Biochem. Physiol. - 170 (1981). - S. 7-13

MOFFITT, B. P.: Effects of acute temperature changes on metabolism, heart rate and ventilation frequency in carp Cyprinus carpio L. / Moffitt, B. P. u. Crawshwa, L. I. - In: Physiol. Zool. - 56 (1983). - S. 397-403

MOORE, R. Y.: The suprachiasmatic nucleus and the organization of a circadian system. - In: Trends in Neuro Science. - 5 (1982). - S. 404-407

MÜLLER, K.: Die Tages- und Jahresperiodik der Bachforelle (Salmo trutta) am Polarkreis. - Aquilo, Ser. Zoologica. - Tom. 8 (1969). - S. 50-62

MÜLLER, K.: Die Drift von Insektenlarven in Nord- und Mitteleuropa. - Österreichs Fischerei. - 23 (1970). - S. 111-117

MÜLLER, K.: Zur Tages- und Jahresperiodik der lokomotorischen Aktivität von Fischen des Kaltisjokk. - In: Österreichs Fischerei. - 23 (1970). - S. 129-135

MÜLLER, K.: Different phase position of activity in juvenile and adult perch / Müller, K. u. Johnson, T. - In: Naturwiss. - 65 (1978). - S. 392

NABER, D.: Chronic fluphenatine treatment modifies circadian rhythms of neurotransmitter receptor binding in rat brain / Naber, D.; Wirz-Justice, A. u. KAFKA, M. - In: J. Neura Transmission. - 55 (1982). - S. 277-288

NANBA, K.: Untersuchungen an Elektrokardiogrammen (EKG) von Fischen: Beziehungen zwischen EKG und Körpermasse / Nanba, K.; Murachi, S. - In: J. Fac. Fisheries and Animal Husbandry Hiroshima Univ. - Fukuyama. - 17 (1978). - S. 195-197

NELSON, J. A.: Physiological observations on developing rainbow trout, Salmo gairdneri RICH., exposed to low pH and calcium ion concentrations. - In: J. Fish. Biol. - London; New York; San Francisco. - 20 (1982). - S. 359-372

NICHELMANN, M.: Licht und Leben. - Berlin, 1982

PALMER, J. D.: Preliminary findings on the effect of $D_2O$ on the period of circadian activity rhythms / Palmer, J. D.; Dowse, H. B. - In: Biol. Bull. - 137 (1969). - S. 388

PETTERSON, K.: Drug induced changes in cardiovascular parameters in the Atlantic cod (Gadus morhua) / Petterson, K. u. Nilsson, S. - In: J. comp. Physiol. - 137 (1980). - S. 131

PEYRAUD-WAITZENEGGER, M.: Cardiovascular and ventilatory effects of catecholamines in unrestrained eels (Anguilla anguilla) / Peyraud-Waitzenegger, M.; Barthelemy, L. u. Peyraud, C. - In: J. comp. Physiol. 138 (1980). - S. 139-143

PFANZAGL, J.: Allgemeine Methodenlehre der Statistik. Berlin. Bd. 747/747a

PRIEDE, I. G.: Behavioral and physiological rhythms of fish in their natural environment as indicated by ultrasonic telemetry of heart rate. - In: Rhythmic activity of fishes. - London; New York; San Francisco, 1978

RANDALL, D. J.: The nervous control of cardiac activity in the tench (Tinca tinca) and the goldfish (Carassius auratus). - In: Physiol. Zool. - 39 (1966). - S. 185-192

RANDALL, D. J.: Fish physiology / ed. by Hoar, W. S. and Randall, D. J. - Vol. 4 (1970) - New York; London: Academic Press. - S. 133-172

REICHENBACH-KLINKE, H.-H.: Der Süßwasserfisch als Nährstoffquelle und Umweltindikator. - Stuttgart, 1974

REICHENBACH-KLINKE, H.-H.: Antibiotika und Sulfonamide in der Fischtherapie und ihre Gefahren. - In: Reichenbach-Klinke, H.-H.: Fisch und Umwelt. - 2. - S. 115-118, 1976

REIDE, M.: Untersuchungen über den Einfluß ausgewählter Antimikrobiotika (Chloramphenicol, Oxytetracyclin, Furazolidon, Mebacid) auf Karpfen und Forellen: Dipl.-Arb. - HU Berlin, Sekt. TPV 1979

REINBERG, A.: Clinical chronopharmacology, an experimental basis for chronotherapy. - In: Arzneim.-Forsch. - 28 (1978). - S. 1809-1872

RENSING, L.: Biologische Rhythmen und Regulation. - Jena, 1973

RICHTER, C. P.: Blood - clock barrier: its penetration by heavy water (Abstract). - In: Acad. Sci. - 66 (1970). - S. 244

RIJKERS, G. T.: The immune system of cyprinid fish. Oxytetracycline and the regulation of humoral immunity in carp (Cyprinus carpio) / Rijkers, G. T.; van Oosterom, R.; Muiswinkel, W. B. - In: Vet. Immunology and Immunopathology - Amsterdam. - 2 (1981). - S. 281-290

SCHÄPERCLAUS, W.: Fischkrankheiten. - Berlin: Akademie-Verl., 1979

SCHEVING, L. E.: An overview of chronopharmacology / Scheving, L. E.; v. Mayersbach, H. u. Pauly, J. E. - In: I. europ. de Toxicologie, Juillet-Aout. - 7 (1974). - S. 203-227

SCHMID, A.: Arzneimittelrückstände bei Fischen. - In: Reichenbach-Klinke, H.-H.: Fisch und Umwelt / Reichenbach-Klinke, H.-H. u. Anne, W. - Stuttgart, Bd. 9. - 1981

SHELTON, G.: The relationship between heart beat and respiration in teleost fish / Shelton, G. u. Randall, D. J. - In: Com. Biochem. Physiol. - 7 (1962). - S. 237-241

SIEGMUND, R.: Der Einfluß von Wassertemperatur und Fütterung auf die Herzfrequenz und die lokomotorische Aktivität beim Karpfen (Cyprinus carpio L.). - In: Wiss. Z. WPU Rostock (1976). - S. 103-110

SIEGMUND, R.: Untersuchungen zu Zeitgeberwirkungen auf die Schwimmaktivität des Karpfens, Cyprinus carpio. - In: Zool. Garten N. F. - Jena, - 50 (1980). - S. 366-370

SIEGMUND, R.: Zeitmusteranalysen der Herzfrequenz und Schwimmaktivität von Fischen (Cyprinus carpio L.) in Abhängigkeit von Futterangebot / Siegmund, R. u. Schulz, H. J. - In: Zool. Jb. Physiol. - 87 (1983). - S. 325-335

SIEGMUND, R.: Zeitmusteranalysen von Schwimmaktivität und Herzrate zur Bestimmung von Umwelteinflüssen auf das Verhalten von Fischen (Pisces, Cyprinidae): Diss. B. - HU, Berlin 1981

SIEGMUND, R.: The dependence of heart rate and locomotor activity on water temperature in the carp (Cyprinus carpio L.) / Siegmund, R. u. Vogel, J. - In: Experientia. - 33 (1977). - S. 1607-1609

SIEGMUND, R.: Laboruntersuchungen und Freiwasserbeobachtungen zur Schwimmaktivität einheimischer Süßwasserfische / Siegmund, R. u. Wolff, D. L. - In: Fischereiforschung. - 11 (1973). - S. 107-124

SIEGMUND, R.: Aktivitätsperiodik und extra retinale Lichtwahrnehmung bei Fischen / Siegmund, R. u. Wolff, D. L. - In: Nova acta Leopoldina. - 37 (1973). - S. 145-147,

SPANNHOF, L.: Untersuchungen zur Beeinflussung und Rhythmik freier Fettsäuren (FFA) im Blut von Regenbogenforellen (Salmo gairdneri RICH.) / Spannhof, L.; Waaterstraat, A.; Kubiciel, A. - In: Fischerei-Forschung: Wiss. Schriftenreihe. - 21 (1983)

SPANGENBERG, R.: Die Ursache der Drehererkrankung des Karpfens / Spangenberg, R. u. Schreckenbach, K. - In: Fortschritte der Fischereiforschung. - 2 (1984) (im Druck)

STEFFENS, W.: Der Karpfen. - Wittenberg-Lutherstadt, 1975

STEFFENS, W.: Industriemäßige Fischproduktion. - Berlin, 1979

STEVENS, D. E.: Changes in blood pressure, heart rate and breathing rate during moderate swimming activity in rainbow trout / Stevens, D. E. and Randall, D. J. - In: J. Exp. Biol. - 46 (1967). - S. 307-315

SWIFT, D. R.: Activity cycles in the brown trout (Salmo trutta L.) II. Fish artificially fed. - In: J. Fish. Res. Bd. - Canada. - 21 (1964). - S. 133-138

SZAKOLCZAI, J.: Beiträge zu den Resorptionsverhältnissen einiger Antibiotika bei Karpfen (ung.). - In: Ungar. Veterinärmed. - 20 (1965). - S. 17-20

SZORADY, I.: Chloramphenicol in der Pädiatrie seit 20 Jahren. - In: Therapia Hungaria. - 21 (1973). - S. 1-8

TAKAHASHI, J. S.: Regulation of circadian rhythmicity / Takahashi, J. S. u. Zatz, M. - In: Science. - 217 (1982). - S. 1104-1111

TAUCHNITZ, C. H.: Rationelle antimikrobielle Chemotherapie. - Leipzig, 1980

TEMBROCK, G.: Grundriß der Verhaltenswissenschaften. - Jena: Fischer-Verl., 1980

TEMBROCK, G.: Verhalten als Bioindikator. - In: Methodische und theoretische Grundlagen der Bioindikation (Bioindikation 1). - Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg: Wissenschaftl. Beiträge; 24 (P 8). - Halle, 1980

TROLLDENIER, H.: Antibiotika in der Veterinärmedizin. - Jena, 1977

TUPIN, J. P.: Certain circadian rhythms in manic depressives and their response to lithium. - In: Int. Pharmacopsychiat. - 5 (1970). - S. 227-232

VLADIMIROV, V. L.: Wie erhält man Antibiotika im Fischorganismus. - In: Rybovodstvo i Rybolovstvo. - Moskva. - 4 (1971). - S. 10 (russ.)

WAHLQVIST, I.: Effects of catecholamines on isolated systemic and branchial vascular beds of the cod, Gadus morhua. - In: J. comp. Physiol. - 137 (1980). - S. 139-143

WANG, R. T.: Effects of fuel oil on sea catfish. Feeding activity and cardiac responses / Wang, R. T.; Nicol, J. A.-C. - In: Bull. environmental Contaminat. and Toxical. - New York; Heidelberg; Berlin (West). - 18 (1977). - S. 170-176

WEGRZYNOWICZ, R.: Daily changes of the heart and respiratory rates of the bull trout (Salmo trutta trutta L.) / WEGRZYNOWICZ, R. u. a. - In: Acta Ichthyol. et Piscatoria. - Szczecin. - 5 (1975). - S. 41-44

WEINTRAUB-MATTHEW, J.: Der Einfluß des Aktivitätsniveaus auf die Bradykardie der Forelle (Salmo gairdneri) bei Sauerstoffmangel. - In: J. Fish Biol. - London; New York. - 7 (1974). - S. 791-796

WIRZ-JUSTICE, A.: Circadian rhythms in rat brain alpha- and beta-adrenergic receptors are modified by chronic imipramine / Wirz-Justice, A. u. a. - In: Life Sciences. - 27 (1980). - S. 341-347

WOLFF, D. L.: Der Einfluß ausgewählter halogenisierter Methane, Ethane und Ethylene auf das Verhalten und die Mortalität kleiner Labortiere unter Berücksichtigung tageszeitlicher und jahreszeitlicher Variabilität: Diss. B. - Berlin: HU, 1983

WOLFF, D. L.: Die tageszeitliche Abhängigkeit der Wirkung von Trichloräthylen auf die spontane lokomotorische Aktivität und von Tetrachloräthan auf die Mortalität von Mäusen / Wolff, D. L. u. Siegmund, R. - In: Biol. Zbl. - 97 (1978). - S. 345-351

WOLFF, D. L.: Beschreibung der Cosinor-Methode zur Analyse zirkadianer Rhythmen mit Beispielen aus der Verhaltensbiologie und der Industrietoxikologie / Wolff, D. L.; Siegmund, R. u. Vogel, J. - In: Biol. Zbl. - 102 (1983). - S. 451-464

WOOD, C. M.: A pharmacological analysis of the adrenergic and cholinergic mechanisms regulating branchial vascular resistance of the rainbow trout (Salmo gairdneri). - In: Can. J. Zool. - 53 (1975). - S. 1569-1577

WUNDER, W.: Verhalten der Fische bei Nacht. - Allg. Fischereizeitung. - (1972). - S. 212-213

ZABKA, H.: Zeitmuster des lokomotorischen Verhaltens von Silberkarpfen (Cyprinidae: Hypophtalmichthys molitrix Val.) unter Laborbedingungen und den Bedingungen der industriellen Fischproduktion: Diss. A. - Berlin: HU, 1981

Für das Überlassen des Themas und wertvolle Hinweise bei der Durchführung und Auswertung der Arbeit danke ich meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. G. Tembrock, herzlich. Frau Dr. R. Siegmund als Betreuerin gilt mein Dank für ihr ständiges Interesse am Fortgang der Arbeit und anregende Diskussion.

Den Mitarbeitern der AG Fischkrankheiten des Institutes für Binnenfischerei danke ich für die kollegiale Unterstützung und hilfreichen Rat.

Mein Dank gilt auch der ZBE Fischaufzucht Zippelsförde, Frau E. Schmidt für die technische Assistenz und Herrn Dr. J. Vogel für die Beratung der statistischen Bearbeitung der Versuchsergebnisse.

Thesen zur Dissertation

# Zeitmusteranalysen von Schwimmaktivität und Herzrate unter Einfluß von Chloramphenicol bei den Nutzfischen Cyprinus carpio L. und Salmo gairdneri RICH.

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

vorgelegt der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
des Wissenschaftlichen Rates
der Humboldt-Universität zu Berlin

von

Dipl.-Fischereiingenieur Martina Reide
geb. am 19. 1. 1957 in Neuruppin

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. habil. Dieter Kreysig

Gutachter: 1. .....

2. .....

3. .....

Berlin, den .....

1. In der industriemäßigen Fischproduktion kommt der intensiven Überwachung der Gesunderhaltung der Fischbestände eine besondere Bedeutung zu.
   Biologische Rhythmen sind eine wesentliche, aber noch wenig erforschte Hilfe für das frühzeitige Erkennen von Instabilitäten der Fischbestände. Erfassen und Interpretation verhaltensbiologischer Daten, wie Schwimmaktivität und Herzrate können bei der Optimierung, aber auch zur Störschwellenfestlegung von Organismus - Umweltbeziehungen genutzt werden.

2. Obwohl Chemotherapeutika umfangreich eingesetzt werden, wie z. B. das Chloramphenicol, ist deren Einfluß auf die zirkadiane Rhythmik vergleichsweise wenig untersucht worden. Unsere Studien konzentrieren sich auf die Schwimmaktivität von Karpfen, die unter standardisierten Laborbedingungen gehalten wurden und von Forellen, die weitestgehend natürlichen Licht- und Witterungsverhältnissen ausgesetzt waren. Die Schwimmaktivität wurde vor, während und nach einer mehrtägigen Behandlungsphase mit Chloramphenicol (CA) erfaßt. Die Applikation des CA erfolgte peroral in therapeutischen Konzentrationen im Vergleich zu Kontrolltieren.

   Die Herzrate wurde nach einer einmaligen peroralen CA-Gabe mit Schlundsonde und über das Futter bei Karpfen im Vergleich zu den Kontrolltieren analysiert.

3. CA mittels einer Schlundsonde an Karpfen verabreicht, reduzierte während der Behandlung die Schwimmaktivität signifikant im Vergleich zum Ausgangsniveau. Nach der Behandlung können nur die Kontrollfische das Ausgangsniveau ihrer Schwimmaktivität erreichen, während die CA-behandelten Tiere signifikant darunter bleiben.

4. CA über das Futter verabreicht führt weniger zu einer Verringerung der Schwimmaktivität als vielmehr zu einer Veränderung im Zeitmuster. Dabei zeigt eine CA-Applikation um 14.00 Uhr eine

signifikante Erhöhung der Schwimmaktivität 4 Stunden nach der Applikation (zwischen 17.00 und 18.00 Uhr) während der Behandlungsphase, sowohl bei Karpfen als auch bei Forellen. Die Phase der 24-Stunden-Periode, die vermittels Cosinor-Analyse ermittelt wurde, verschiebt sich ebenfalls während der Behandlung um 2 Stunden. Nach der Behandlung läuft die Phase in Richtung Ausgangslage zurück und die maximale Aktivität ist wieder zeitgleich wie vor der Behandlung.

5. Wird CA um 11.00 Uhr appliziert, verändert sich das Zeitmuster der Schwimmaktivität während der Behandlungsphase mit CA kaum. Bei Karpfen und Forellen ist keine Verschiebung der maximalen Aktivität während der Behandlung festzustellen, obwohl auch 4 Stunden nach Applikationszeitpunkt ein Anstieg der Schwimmaktivität zu verzeichnen ist. Nach der Behandlung jedoch findet sowohl bei Karpfen als auch bei Forellen eine Verschiebung der Phase der 24-Stunden-Periode statt, allerdings in entgegengesetzter Richtung. Zugleich ist eine signifikante Verringerung der Schwimmaktivität nach der Behandlung festzustellen.

6. Auf Grund der tagesrhythmischen Organisation von Körperfunktionen, die eng mit Aktivitäts- und Ruheperioden der Organismen verbunden sind, könnte die Wirkung einer 14.00 Uhr-Applikation eine andere sein, als die einer 11.00 Uhr-Applikation. Eine 14.00 Uhr-Applikation von CA, vor allem das Erreichen des maximalen Serumspiegels (4 Stunden nach Applikation bei 18 °C Wassertemperatur) fällt mit 18.00 Uhr in eine unter natürlichen Bedingungen aktive Zeit beider Arten.

7. Eine einmalige perorale CA-Applikation sowohl mit Schlundsonde als auch über das Futter erhöhte die Herzrate signifikant gegenüber den Kontrolltieren. Eine erhöhte Herzfrequenz blieb über 10 Stunden nachweisbar. Die signifikante Erhöhung der Herzrate im Minutenbereich könnte auf eine zentralnervöse Wirkung hindeuten, obwohl in der vorliegenden Literatur keine Anhaltspunkte einer Herz-Kreislauf-Wirkung von CA in therapeutischen Dosen gegeben sind.

8. Auf Grund vorliegender Ergebnisse wird der Praxis die Empfehlung gegeben, CA mit der letzten Fütterung zu verabreichen, da somit die Möglichkeit einer folgenden Erregung z. B. durch eine erneute Fütterung herabgesetzt ist und eine langzeitige Wirkung von CA (14 Tage nach der Behandlung) reduziert wird.

9. Schwimmaktivität und Herzrate haben sich als gute Indikatoren erwiesen, schnell und relativ rückwirkungsarm den Zustand des Fisches nach einer CA-Behandlung widerzuspiegeln. Diese Parameter besitzen somit eine bio-indikative Bedeutung und könnten zur Festlegung einer frühesten Störschwelle für Belastungen in der intensiven Fischproduktion genutzt werden.

10. Die Anwendung von CA sollte auf Grund der beschriebenen Nebenwirkungen auf wirklich notwendige, bakteriologisch gesicherte Fälle beschränkt bleiben, nicht zuletzt, weil die Gefahr der Rückstandsbildung und resistenter human- und tierpathogener Stämme gegeben ist.